



# **Influência da preparação da amostra nos resultados da análise da composição química da madeira**

**Cláudia Augusto dos Santos**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
**Engenharia Florestal e dos Recursos Naturais**

Orientador: Doutor José Afonso Rodrigues Graça

Co-orientador: Doutor José Carlos Carvalho Rodrigues

## **Júri:**

Presidente: Doutora Maria de Fátima Cerveira Tavares, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.

Vogais: Doutor António Jorge Velez Marques, Professor Coordenador do Instituto Superior de Engenharia de Lisboa;

Doutor José Afonso Rodrigues Graça, Professor Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutor José Carlos de Carvalho Rodrigues, Investigador Auxiliar do Instituto de Investigação Científica Tropical.

Lisboa, 2009

## Agradecimentos

Agradeço ao meu orientador externo, Doutor José Carlos Rodrigues, pela disponibilidade, sugestões e críticas prestadas durante a execução deste trabalho e pela possibilidade concedida para a sua realização.

Quero também agradecer ao meu orientador interno, Doutor José Afonso Rodrigues Graça, pela disponibilidade e pelo rigor e clareza das sugestões de correcção efectuadas nas fases finais de elaboração deste trabalho e que permitiram a sua conclusão.

Ao Centro de Estudos Florestais (CEF) do Instituto Superior de Agronomia (ISA), pela disponibilização das instalações e ao Centro de Florestas e Produtos Florestais (CFPF) do Instituto de Investigação Científica Tropical (IICT), pela cedência dos equipamentos de pirólise analítica e de espectroscopia de infravermelho (ATR-FTIR).

Ao Instituto de Investigação Científica Tropical (IICT), ao Doutor José Carlos Rodrigues e à Doutora Teresa Quilhó, pelas oportunidades que me proporcionaram com a colaboração em trabalhos no Centro de Estudos Florestais (CEF) e no Centro de Florestas e Produtos Florestais (CFPF), e que contribuíram em grande medida para a minha maior disponibilidade para a execução do presente trabalho. O meu sincero Obrigada.

Quero ainda agradecer à Doutora Teresa Quilhó e à Professora Fátima Tavares, pelo apoio, incentivo e principalmente pela compreensão na fase final de elaboração deste trabalho.

À Ana Alves, pela amizade e pelo inestimável apoio e orientação ao longo de todas as fases de realização prática deste trabalho, bem como pela determinação quantitativa da lenhina por pirólise analítica.

À Joaquina, pela amizade e pelo aconselhamento em várias práticas laboratoriais.

Aos meus amigos e colegas, embora não explicitamente mencionados, um agradecimento muito especial, pelo carinho, paciência, apoio e incentivo, e por estarem presentes sempre que precisei. Para todos os que “privei” da minha companhia neste último ano e meio, mas estiveram sempre “presentes”, o meu mais sincero Obrigada.

Aos meus Pais e Irmãs, agradeço o apoio e a compreensão, em especial durante a minha “ausência” neste último ano e meio, agradecendo também a confiança pelo facto de, apesar de todas as dificuldades, sempre acreditarem que este momento seria possível.

À música, por ser a minha “terapia para todos os males”, um dos meus estímulos e por ser de facto a “linguagem suprema da alma”. 🎵

## Resumo

O presente trabalho teve como objectivo verificar a influência da granulometria das amostras nos resultados da análise da composição química da madeira de pinheiro (*Pinus pinaster*) e de eucalipto (*Eucalyptus globulus*).

A análise do rendimento da moagem mostrou que o tamanho e o tipo de malha de saída dos moinhos, bem como o teor de extractivos das amostras influenciam a distribuição em classes granulométricas. O rendimento da fracção 40/60 mesh com o moinho de facas é sempre relativamente baixo (<22 %).

Na caracterização química da madeira, verificou-se um aumento do teor de extractivos das fracções mais grosseiras para as mais finas. O efeito “dimensão das partículas” mostrou ser menos influente que o efeito “composição química diferencial” nas análises efectuadas para as diferentes fracções granulométricas. Para esta verificação foram utilizadas fracções sujeitas a re-moagem.

Os métodos de extracção, Soxhlet e Soxtec, mostraram ter precisões semelhantes.

Relativamente ao teor de lenhina Klason, as duas fracções mais grosseiras mostraram a ocorrência de uma hidrólise incompleta, facto comprovado por infravermelho médio. A fracção mais fina no caso do eucalipto apresentou teores de lenhina mais elevados que as restantes fracções.

O teor de lenhina obtido por pirólise analítica revelou valores inferiores aos obtidos pelo método Klason.

## Palavras-chave

*Pinus pinaster* Aiton, *Eucalyptus globulus* Labill, Granulometria, Análise química, Extractivos, Lenhina.

## Abstract

The main purpose of this study was to assess the impact of the preparation of the samples in the results obtained in the chemical composition analysis of wood. This was studied for Maritime Pine (*Pinus pinaster* Aiton) and Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) in samples with different extractives content.

The yield in different particle sizes after milling was shown to be influenced by the size and morphology of sieve meshes and level of extractives. The yield in the 40/60 mesh fraction was always relatively low (<22%)

Extractives content increased from the most coarse to the finer particle sizes. However, the "particle size" effect was shown to be determined mostly by differences in the chemical composition, as shown by the analysis performed after re-grinding.

The methods of extraction, Soxhlet and Soxtec, were shown to have similar accuracies.

Regarding the content of Klason lignin, the two coarsest samples showed the occurrence of an incomplete hydrolysis, as evidenced by infrared analysis. The sample of finer particle size, in the case of eucalyptus, had higher lignin content than the other samples.

The content of lignin obtained through analytical pyrolysis showed lower values than those obtained by the Klason method.

## Keywords

*Pinus pinaster* Aiton, *Eucalyptus globulus* Labill, Particle size, Chemical analysis, Extractives, Lignin.

## Extended Abstract

Knowing the chemical composition of wood is important in order to understand its properties and uses. This is of even greater importance when chemical transformation is involved, in processes such as converting wood into pulp and paper.

Several entities, like paper industry associations, have standardized the procedures for chemical analysis. This is the case of the well-known and commonly referred TAPPI standards (Technical Association of the Pulp and Paper Industry).

However, irrespective of the standard followed there are always operations that have to be applied, like grinding to reduce sample dimensions. This allows for chemical reactions to be complete and occur more rapidly.

The TAPPI standard T 264 "Preparation of wood for chemical analysis" (TAPPI, 1994) specifically recommends the use of wood grounded to pass 0,425 mm screen - 40 mesh -, obtained through grinding and sieving the wood. The TAPPI standard T 257 "Sampling and preparing wood for analysis" (TAPPI, 1994) recommends that the material should not be re-ground, to avoid any significant changes in its chemical composition. Despite this, some authors favour the homogeneity of the samples instead of its representativeness and, in some cases, samples of finer sizes can be difficult to filter.

One of the most commonly used samples is the 40/60 mesh (0,425 a 0,250 mm) (Matsumoto *et al.*, 1984; Lai *et al.*, 1990; Lu *et al.*, 1990; Chantre *et al.*, 2002; Bettazi *et al.*, 2003; Dai *et al.*, 2004; Alves *et al.*, 2006), although many others have been used. Asian authors tend to prefer finer samples, smaller than 60 mesh (Chiang *et al.*, 1990; He & Terashima, 1990; Tai *et al.*, 1990; Yeh *et al.*, 2005; Furuno *et al.*, 2006), while some Australian authors prefer samples smaller than 1 mm (Raymond & Schimleck, 2002; Schimleck *et al.*, 2004). Less common is the use of coarser samples, ranging 3 to 5 mm (Martin-Benito *et al.*, 2005).

The main purpose of this study was to assess the impact of the preparation of the samples, namely particle size, composition and re-grinding, in wood chemical analysis. This was studied in Maritime Pine (*Pinus pinaster* Aiton) and Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*). For each wood, two samples were selected, with contrasting extractives content, low and high.

The wood samples were ground and sieved to different particle sizes (<16, 16/40, 40/60, 60/80 and >80 mesh), using sieves with different mesh. Aliquots of some particle sizes were re-ground and its composition compared with the original fraction. The chemical analysis included the determination of extractives and lignin. For the determination of

extractives, samples were successively extracted with solvents of increasing polarity, dichlorometane ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), ethanol ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ) and water ( $\text{H}_2\text{O}$ ).

To determine lignin content the Klason method was used, which consists in the acidic hydrolysis of polysaccharides with sulphuric acid ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) at 72% followed by a dilution at 3%. The solid residue corresponds to the Klason lignin.

The analysis of the milling yield showed that the size, type of mesh morphology and level of extractives influences the distribution of the material in samples sizes. Up to 70% - 90% of the ground wood was in the coarser fractions (<40 mesh). The sample 40/60 mesh, one of the most commonly used, had its maximum yield of 16 to 22% with the sieve of 1 mm. Much higher yields in the 40/60 mesh fraction can be obtained by re-grinding the 16/40 mesh.

Two extraction methods were compared - Soxhlet and Soxtec -, revealing a similar precision, although the first method showed higher values. Extractives content increased from the coarse sizes to the finer ones. This increase, when significant, revealed the existence of different chemical compositions between the different sample sizes, with no relevant effect due to particle size in itself. In fact, the samples subjected to re-grinding showed a higher content of extractives to the samples obtained from non-re-grinding, but this increase was not significant.

Regarding Klason lignin, the more coarse samples (<16 mesh) showed a higher lignin content, due to the occurrence of an incomplete hydrolysis. That was confirmed by ATR-FTIR analysis of Klason residue. This analysis also revealed the presence of an incomplete hydrolysis in the sample 16/40 mesh, in the case of the sample of low-pine extractives and also in eucalyptus samples. The finest sample (>80 mesh) in the case of eucalyptus proved to be the fraction with higher content of lignin.

Between different sample sizes there was influence of the size effect for the samples with lower content of extractives of both pine and eucalyptus, with the added influence of the composition effect in eucalyptus with lower content of extractives. It was observed that the samples subjected to re-grinding exhibit levels of Klason lignin slightly lower than obtained for the fraction not subject to re-grinding. The content of lignin obtained through analytical pyrolysis was less than the one obtained for the Klason method.

The sample 40/60 mesh (0,425 a 0,250 mm), one of the most commonly used, proved to be better for wood chemical analysis than the sample <40 mesh, since its dimensions facilitate all the processes of preparation and analysis, without compromising the accuracy of the results obtained. However, the yield for this particle size is very low in knife mill and in situations where there is little amount of sample, as is the case, for example, of

non-destructive sampling with Pressler drill, it can provide insufficient material for chemical characterization.

This work is part of the activities of Centro de Estudos Florestais (CEF) of Instituto Superior de Agronomia (ISA) and of Centro de Florestas e Produtos Florestais (CFPF) of Instituto de Investigação Científica Tropical (IICT).

# Índice

Lista de Figuras	iii
Lista de Quadros	v
Lista de Anexos	vii
Lista de Acrónimos, Símbolos e Abreviaturas	viii
<b>1 Introdução</b>	<b>1</b>
1.1 Composição química da madeira	2
1.2 Técnicas de análise química da madeira	4
1.2.1 Via húmida	4
1.2.2 Pirólise analítica	4
1.2.3 ATR-FTIR	4
<b>2 Material e Métodos</b>	<b>5</b>
2.1 Caracterização e amostragem	5
2.2 Identificação das amostras	5
2.3 Preparação das amostras	5
2.3.1 Moagem	5
2.3.1.1 Moinho de facas com diferentes malhas de saída	5
2.3.1.2 Moinho ultracentrífugo com diferentes malhas de saída	7
2.3.2 Moagem para análise química da madeira	10
2.3.3 Determinação quantitativa de extractivos	11
2.4 Análise química	13
2.4.1 Determinação quantitativa da lenhina por via húmida	13
2.4.2 Determinação quantitativa da lenhina por pirólise analítica	14
2.4.3 Obtenção dos espectros de ATR-FTIR	14
2.4.4 Métodos estatísticos	15



<b>3 Resultados e Discussão</b>	<b>16</b>
3.1 Efeito da moagem no rendimento granulométrico	16
3.1.1 Efeito da moagem no moinho de facas com diferentes malhas de saída	16
3.1.2 Efeito da re-moagem no moinho ultracentrífugo com diferentes malhas de saída	18
3.2 Extractivos	20
3.2.1 Influência da granulometria na determinação do teor de extractivos	20
3.2.1.1 Efeito da dimensão entre classes granulométricas	22
3.2.1.2 Efeito da composição entre classes granulométricas	24
3.2.2 Influência da re-moagem na determinação do teor de extractivos	26
3.2.3 Eficiência da extracção	28
3.2.4 Comparação entre as extracções pelos métodos Soxhlet e Soxtec	29
3.3 Lenhina	30
3.3.1 Influência da granulometria na determinação do teor de lenhina Klason	30
3.3.1.1 Efeito da dimensão entre classes granulométricas	32
3.3.1.2 Efeito da composição entre classes granulométricas	33
3.3.2 Influência da re-moagem na determinação do teor de lenhina Klason	34
3.3.3 Comparação entre os métodos Klason e Pirólise analítica para a quantificação do teor de lenhina	35
3.3.4 Resíduo Klason analisado por Infravermelho médio	35
<b>4 Conclusões</b>	<b>40</b>
<b>5 Referências bibliográficas</b>	<b>42</b>
<b>6 Anexos</b>	

## Lista de Figuras

Figura 1.1 – Constituintes químicos da madeira (Fengel & Weneger, 1984).	2
Figura 2.1 – Moinho de facas Retsch.	6
Figura 2.2 – Moinho de facas Retsch SM 2000.	6
Figura 2.3 – Malhas de saída de 2 mm sem espera, 2 mm com espera e 1 mm com espera.	6
Figura 2.4 – Pormenor das malhas de saída de 2 mm sem espera (esquerda) e com espera (direita).	6
Figura 2.5 – Crivo vibratório Retsch.	7
Figura 2.6 – Moinho ultracentrífugo Retsch ZM 100.	7
Figura 2.7 – Plano de amostragem para determinação do rendimento no moinho de facas e para análise química.	8
Figura 2.8 – Plano de amostragem para determinação do rendimento no moinho ultracentrífugo de aliquotas de cada uma das fracções 16/40 mesh, obtidas no moinho de facas.	9
Figura 2.9 – Amostragem das 32 amostras destinadas à análise química.	10
Figura 2.10 – Fracções iniciais e com re-moagem, destinadas a análise química.	11
Figura 2.11 – Extracção de uma série de amostras pelo método de Soxtec.	11
Figura 2.12 – Pormenor de extracção pelos métodos de Soxtec e de Soxhlet.	12
Figura 2.13 – Determinação da lenhina total.	14
Figura 3.1 – Rendimento de moagem no moinho de facas para as três malhas de saída.	17
Figura 3.2 – Rendimento de moagem da fracção 40/60 mesh para as três malhas de saída.	18
Figura 3.3 – Rendimentos médios da fracção 16/40 mesh re-moída no moinho ultracentrífugo com as malhas de saída de 1 mm (A), 0,75 mm (B) e 0,5 mm (C).	19

Figura 3.4 – Teores de extractivos com e sem re-moagem para as três primeiras fracções.	27
Figura 3.5 – Espectros ATR-FTIR, normalizados a $1505\text{ cm}^{-1}$ , do resíduo Klason obtido a partir das fracções <16 mesh e >80 mesh, das amostras de <i>Pinus pinaster</i> Pnb_A (A) e Pnb_B (B).	37
Figura 3.6 – Espectros ATR-FTIR do resíduo Klason obtidos a partir de cada uma das fracções granulométricas das amostras de <i>Eucalyptus globulus</i> Eg_A (A) e Eg_B (B) entre menor do que 16 e maior do que 80 mesh.	38

## Lista de Quadros

Quadro 3.1 – Teores de extractivos para as diferentes fracções granulométricas e análise estatística de acordo com o teste de Grubbs.	21
Quadro 3.2 – Comparação do valor médio e desvio padrão do teor de extractivos das fracções <16 mesh, 16/40 mesh e 40/60 mesh da amostra compósita, com o valor médio e desvio padrão do teor de extractivos obtido para aliquotas das mesmas fracções, após re-moagem (granulometria inferior a 0,2 mm).	23
Quadro 3.3 – Comparação do valor médio e desvio padrão do teor de extractivos das fracções 60/80 mesh e >80 mesh da amostra compósita, com o valor médio e desvio padrão do teor de extractivos das fracções <16 mesh, 16/40 mesh e 40/60 mesh, após re-moagem (granulometria inferior a 0,2 mm)	25
Quadro 3.4 – Teor de extractivos após primeira e segunda extracção para o mesmo solvente.	28
Quadro 3.5 – Valores médios e desvio padrão do teor de extractivos de três aliquotas da fracção 40/60 mesh, utilizando os métodos de extracção Soxhlet e Soxtec.	29
Quadro 3.6 – Teores de lenhina Klason para o pinheiro. Valores em percentagem do material seco e livre de extractivos.	30
Quadro 3.7 – Teores de lenhina Klason, solúvel e total, para o eucalipto. Valores em percentagem do material seco e livre de extractivos.	31
Quadro 3.8 – Comparação do valor médio e desvio padrão do teor de lenhina Klason das fracções 16/40 mesh, 40/60 mesh e 60/80 mesh da amostra compósita, com o valor médio e desvio padrão do teor obtido para as aliquotas das três primeiras fracções (<16 mesh, 16/40 e 40/60 mesh), após re-moagem (granulometria inferior a 0,2 mm)	33

Quadro 3.9 – Comparação do valor médio e desvio padrão do teor de lenhina Klason das fracções 60/80 mesh e >80 mesh da amostra compósita, com o valor médio e desvio padrão do teor obtido para as aliquotas das três primeiras fracções (<16 mesh, 16/40 e 40/60 mesh), após re-moagem (granulometria inferior a 0,2 mm)	34
Quadro 3.10 – Teores de lenhina Klason com e sem re-moagem para as três primeiras fracções	34
Quadro 3.11 – Determinação do teor de lenhina pelos métodos Klason e Pirólise analítica.	36

## Lista de Anexos

Anexo 1 – Correspondência entre unidades mesh, micrómetros e milímetros para as 8 amostras de cada árvore em estudo.

Anexo 2 – Teores de extractivos em cada um dos solventes, teores totais de extractivos e teores de lenhina Klason das amostras de Pinheiro bravo.

Anexo 3 – Teores de extractivos em cada um dos solventes, teores totais de extractivos e teores de lenhina Klason das amostras de Eucalipto.

Anexo 4 – Teores de extractivos da fracção 40/60 mesh em cada um dos solventes, teores totais de extractivos e teores de lenhina Klason das amostras analisadas.

## Lista de Acrónimos, Símbolos e Abreviaturas

<b>%</b>	Porcentagem
<b>°C</b>	Graus Celcius
<b>A<sub>205</sub></b>	Absorvância a 205 nanómetros
<b>ATR-FTIR</b>	Attenuated Total Reflectance – Fourier Transform Infrared
<b>CEF</b>	Centro de Estudos Florestais
<b>CFPF</b>	Centro de Florestas e Produtos Florestais
<b>cm</b>	Centímetro
<b>DEF</b>	Departamento de Engenharia Florestal
<b><math>\sigma</math></b>	Desvio Padrão
<b><math>\epsilon</math></b>	Absorptividade
<b>g</b>	Grama
<b>GC</b>	Cromatografia gasosa
<b>IICT</b>	Instituto de Investigação Científica Tropical
<b>ISA</b>	Instituto Superior de Agronomia
<b>l</b>	Litro
<b>ml</b>	Mililitro
<b>mm</b>	Milímetro
<b>MS</b>	Espectrometria de massa
<b>nm</b>	Nanómetro
<b>Scans</b>	Varrimentos de leitura
<b>TAPPI</b>	Technical Association of the Pulp and Paper Industry
<b>UM</b>	Useful Methods
<b>UV</b>	Ultra-Violeta
<b><math>\mu\text{g}</math></b>	Micrógrama
<b><math>\mu\text{m}</math></b>	Micrómetro

# 1 Introdução

O conhecimento da composição química da madeira é importante para a compreensão das suas propriedades e para a sua correcta utilização, especialmente quando se destina à transformação química, como é o caso da transformação da madeira em pasta para papel.

Os procedimentos para a análise química estão normalizados por organismos como as associações técnicas dos industriais de pasta e papel. São disso exemplo as Normas TAPPI (Technical Association of the Pulp and Paper Industry), uma das mais conhecidas e referenciadas.

Qualquer que seja a norma, no entanto, há operações que se efectuam sempre, como é o caso da moagem para a redução de dimensões. Esta operação tem por objectivo permitir que as reacções químicas decorram de forma rápida e completa.

A norma TAPPI T 264 “Preparation of wood for chemical analysis” (TAPPI, 1994) recomenda especificamente que se utilize serradura com menos de 0,425 mm (>40 mesh), obtida por moagem ou serragem. A norma TAPPI T 257 “Sampling and preparing wood for analysis” (TAPPI, 1994) recomenda que não se deve voltar a moer o material, para evitar alterações significativas da composição química. As normas especificam que o material assim obtido (inferior a 0,425 mm) não deve ser posteriormente fraccionado, por se temer que haja diferenças na composição química entre as fracções devido a um enriquecimento diferencial destas em alguns dos componentes químicos da madeira.

No entanto esta recomendação nem sempre é seguida. Em alguns casos os autores preferem favorecer a homogeneidade das amostras em detrimento da representatividade e noutros casos, as fracções finas podem constituir um problema durante a filtração.

Uma das fracções actualmente mais usadas na análise química da madeira é a 40/60 mesh (0,425 a 0,250 mm) (Matsumoto *et al.*, 1984; Lai *et al.*, 1990; Lu *et al.*, 1990; Chantre *et al.*, 2002; Bettazi *et al.*, 2003; Dai *et al.*, 2004; Alves *et al.*, 2006), no entanto é possível encontrar na bibliografia muitas outras. Os autores asiáticos tendem a favorecer fracções mais finas, abaixo de 0,250 mm, isto é, >60 mesh (Chiang *et al.*, 1990; He & Terashima, 1990; Tai *et al.*, 1990; Yeh *et al.*, 2005; Furuno *et al.*, 2006). Alguns autores australianos preferem a fracção inferior a 1 mm (Raymond & Schimleck, 2002; Schimleck *et al.*, 2004). Menos habitual é a utilização de fracções mais grosseiras como por exemplo de 3 a 5 mm (Martin-Benito *et al.*, 2005).



O presente trabalho tem como objectivo verificar a influência da preparação da amostra, nomeadamente do fraccionamento e da re-moagem, nos resultados da análise da composição química da madeira, quanto ao teor de extractivos e ao teor de lenhina. Não se considerou o teor de polissacáridos porque o seu valor pode ser obtido por subtracção do valor da lenhina. Neste trabalho pretendeu-se estudar a influência na madeira de uma resinosa e de uma folhosa, utilizando respectivamente o Pinheiro bravo (*Pinus pinaster* Aiton) e o Eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill).

### 1.1 Composição química da madeira

A madeira é constituída por dois tipos de componentes estruturais, os polissacáridos que englobam a celulose e as hemiceluloses (65% a 75% da massa seca da madeira) e a lenhina (18% a 35%). Para além destes compostos estruturais, existem compostos não estruturais, orgânicos e inorgânicos, que podem ser removidos por processos físicos através de extracção com solventes. Estes compostos denominam-se extractivos (1% a 6%) e cinzas (0 a 2%). (Fengel & Wegener, 1984).

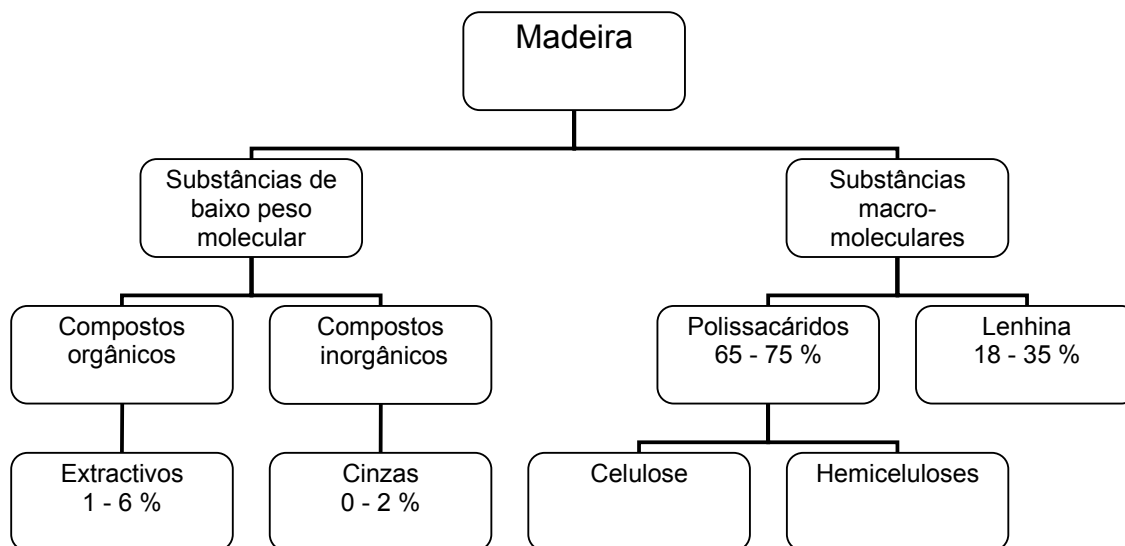


Figura 1.1 – Constituintes químicos da madeira (Adaptado de Fengel & Weneger, 1984).

## Extractivos

A madeira contém compostos de baixo peso molecular que se denominam extractivos, em virtude de poderem ser extraídos da madeira através de solventes orgânicos com polaridade crescente, dado que nenhum solvente consegue por si só remover todos os extractivos (Rodrigues, 1998).

Os extractivos são compostos não estruturais da madeira, responsáveis pela coloração do cerne, pela durabilidade deste em relação ao borne e pelo aroma de certas madeiras. Englobam substâncias muito diversificadas, tais como resinas, gomas, óleos, amido, alcalóides e taninos e encontram-se depositados nos lúmens e nas paredes celulares.

## Lenhina

A lenhina é o componente da parede celular que confere à madeira as características que a permitem distinguir dos outros materiais celulósicos, sendo depositada na fase final do desenvolvimento da parede celular, durante a última fase da sua diferenciação, à qual se segue a morte do citoplasma da célula.

Cerca de 70% da lenhina encontra-se nas paredes celulares primária e secundária, e a restante é encontrada na lamela média, a qual é constituída maioritariamente por lenhina (cerca de 80%). É o polímero responsável pela rigidez e impermeabilidade da parede celular, tendo um papel fundamental no suporte mecânico e na protecção contra agentes exteriores (Fengel & Wegener, 1989).

A lenhina é um heteropolímero polifenólico muito ramificado, de massa molecular elevada, constituído por unidades básicas de fenilpropano, e encontra-se sempre associada aos polissacáridos, verificando-se diferenças da sua composição entre resinosas e folhosas.

Esta macromolécula tridimensional é formada por polimerização desidrogenativa de três álcoois hidroxicinâmicos, o álcool p-cumarílico, o álcool coniferílico e o álcool sinapílico.

## 1.2 Técnicas de análise química da madeira

### 1.2.1 Via húmida

Na determinação do teor de extractivos por via húmida, utiliza-se o método de Soxtec ou o método de Soxhlet, sujeitando cada amostra a extracções sucessivas com solventes de crescente polaridade.

Para a lenhina, o método usualmente mais utilizado é o método de Klason, que permite efectuar a determinação da lenhina insolúvel por hidrólise ácida nas amostras livres de extractivos.

A lenhina solúvel é determinada por espectrofotometria, medindo a sua absorvância no ultravioleta (UV) a um comprimento de onda de 205 nm.

### 1.2.2 Pirólise analítica

Consiste num método de análise que quebra termicamente e na ausência de oxigénio, as ligações de macromoléculas de forma a obter moléculas de menor massa, que são separadas por cromatografia gasosa (GC) e identificadas por espectrometria de massa (MS), originando um pirograma típico para cada amostra analisada.

A pirólise origina produtos característicos da lenhina e dos polissacáridos, cuja identificação permite obter informação que pode ser quantitativa, qualitativa ou estrutural.

### 1.2.3 ATR-FTIR

A espectroscopia de infravermelho caracteriza-se por ser uma espectroscopia de absorção que usa a região do infravermelho do espectro electromagnético, para identificar um composto ou investigar a composição de uma amostra. Baseia-se no facto de as ligações químicas das substâncias possuírem frequências de vibração específicas, as quais correspondem a níveis de energia da molécula.

A espectroscopia no infravermelho é largamente usada tanto na indústria quanto na investigação científica dado que é uma técnica rápida e viável para análise quantitativa e qualitativa, permitindo controle de qualidade e análises dinâmicas. A espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) é uma técnica de análise que permite obter o espectro infravermelho mais rapidamente, obtendo as informações de todas as frequências simultaneamente, através de um único espectro.

## 2 Material e Métodos

### 2.1 Caracterização e amostragem

O material estudado resultou de amostras de madeira de quatro árvores, sendo duas de Pinheiro bravo (*Pinus pinaster* Aiton) e duas de Eucalipto (*Eucalyptus globulus*). Foram seleccionadas com base no seu teor de extractivos, escolhendo para cada espécie, um exemplar com baixo teor de extractivos e outro com alto teor de extractivos, comprovado por anteriores estudos nas mesmas amostras.

### 2.2 Identificação das amostras

Para a identificação das amostras, utilizou-se um sistema de códigos alfanuméricos simples, correspondendo as letras à espécie e exemplar da espécie, e os números às respectivas granulometrias resultantes da moagem e crivagem. As duas amostras seleccionadas para cada espécie foram identificadas com as letras A e B respectivamente para baixos e altos teores de extractivos.

Por exemplo, PnbA\_40/60 representa a amostra de Pinheiro bravo com baixo teor de extractivos, obtida com a malha de saída de 40/60 mesh, que representa partículas com dimensões entre 0,425 e 0,250 mm. (Anexo 1)

### 2.3 Preparação das amostras

#### 2.3.1 Moagem

##### 2.3.1.1 Moinho de facas com diferentes malhas de saída

Após a redução do material com formão e martelo, as amostras foram moídas num moinho de facas Retsch sem malha de saída (Figura 2.1).



Figura 2.1 – Moinho de facas Retsch.



Figura 2.2 – Moinho de facas Retsch SM 2000.

De seguida foram separadas 3 aliquotas de cada uma das amostras e moídas num moinho de facas Retsch SM 2000 (Figura 2.2) com três diferentes tamanhos de malhas de saída, respectivamente 2 mm sem espera, 2 mm com espera e 1 mm com espera. A malha de saída com espera é caracterizada por cada orifício possuir um bordo cortante em forma de cunha no exterior. (Figura 2.3 e 2.4).

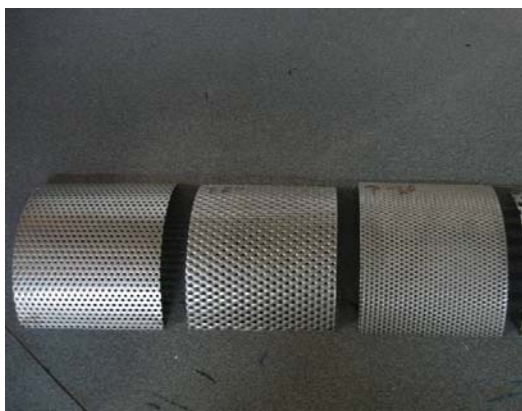


Figura 2.3 – Malhas de saída de 2 mm sem espera, 2 mm com espera e 1 mm com espera.

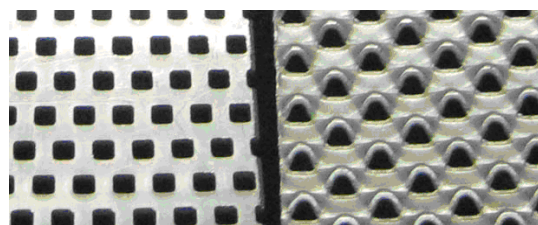


Figura 2.4 – Pormenor das malhas de saída de 2 mm sem espera (esquerda) e com espera (direita).

O material obtido em cada uma das três malhas de saída foi crivado num crivo vibratório Retsch (Figura 2.5) e separado em cinco fracções que originaram a primeira determinação do rendimento em classes granulométricas, para cada uma das malhas de saída anteriores. (Figura 2.7)



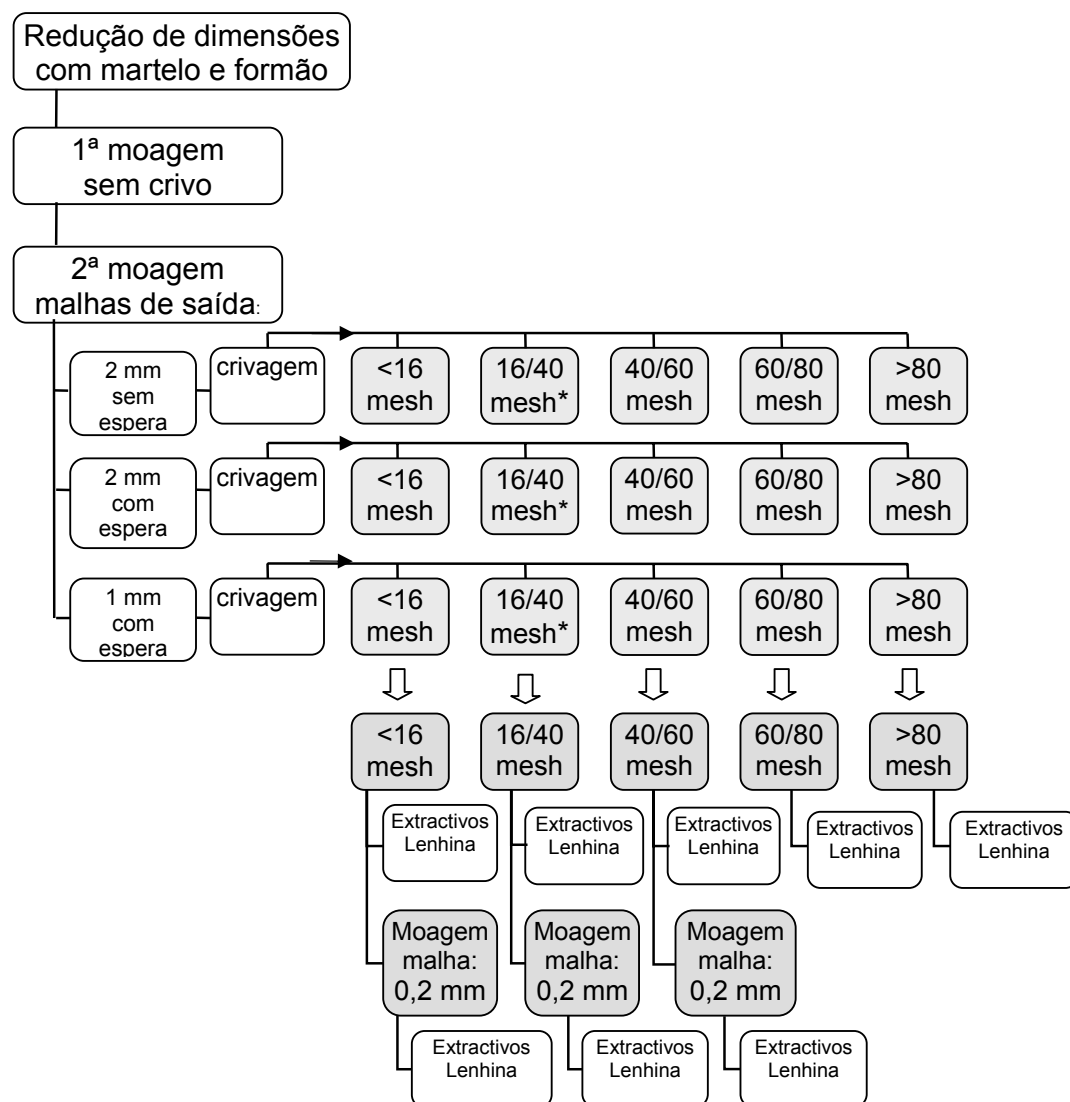
Figura 2.5 – Crivo vibratório Retsch.

### 2.3.1.2 Moinho ultracentrífugo com diferentes malhas de saída

Para o ensaio de moagem com o moinho ultracentrífugo Retsch ZM 100 (Figura 2.6), utilizou-se parte de cada uma das fracções 16/40 mesh obtidas anteriormente com o moinho de facas, e as malhas de saída de 1 mm, 0,75 mm e 0,5 mm. Para as amostras originárias da malha de 2 mm, com e sem espera, foram utilizadas as malhas de saída de 0,75 mm e de 0,5 mm, e para a originária da malha de 1 mm com espera utilizaram-se as malhas de saída de 0,75 mm e 1 mm. (Figura 2.8)



Figura 2.6 – Moinho ultracentrífugo Retsch ZM 100



Determinação do rendimento em cinco classes granulométricas no moinho de facas com três malhas de saída:

2 mm sem espera

2 mm com espera

1 mm com espera

Amostra composta

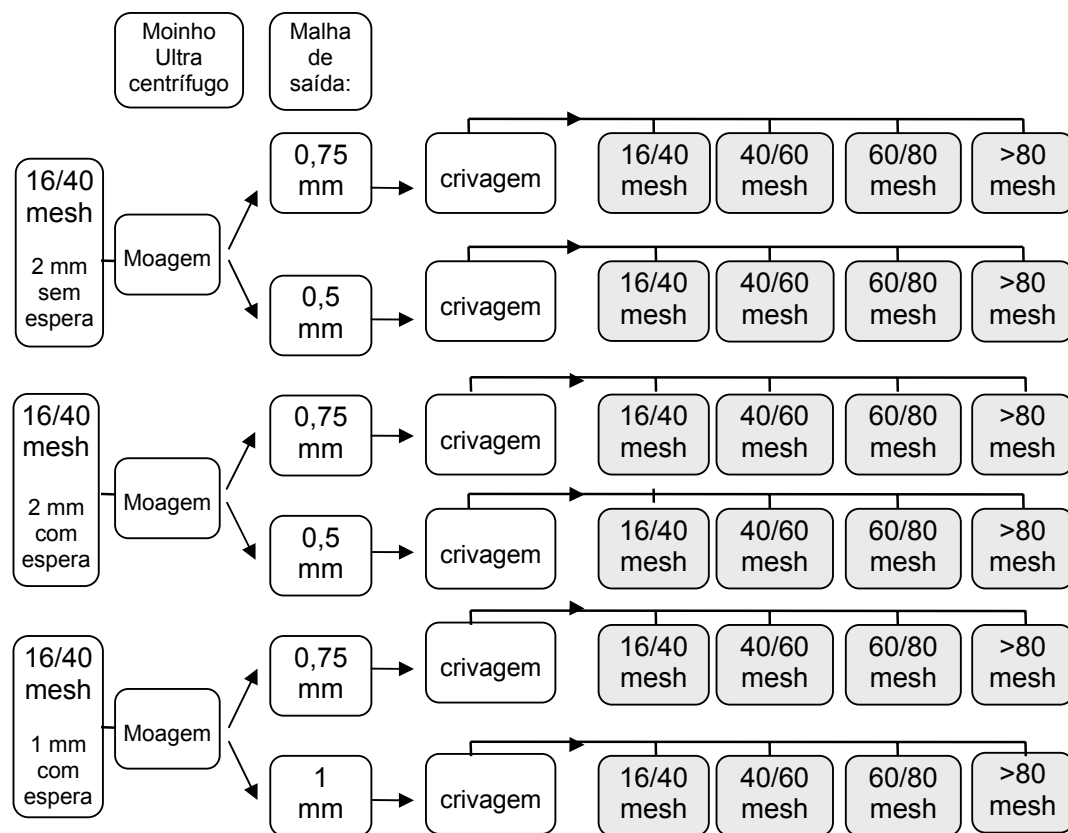
Determinação de extractivos e lenhina

Moagem de uma aliquota das três primeiras fracções no moinho ultracentrífugo com malha de saída de 0,2 mm.

Determinação de extractivos e lenhina (para análise de efeito dimensão, composição e re-moagem)

Figura 2.7 – Plano de amostragem para determinação do rendimento no moinho de facas e para análise química

\* Aliquotas desta fracção são utilizadas na Figura 2.8



Determinação do rendimento em classes granulométricas no moinho ultracentrífugo.

Moagem de aliquotas das frações 16/40 mesh provenientes da moagem e crivagem no moinho de facas com as três malhas de saída:

2 mm sem espera

2 mm com espera

1 mm com espera

Figura 2.8 – Plano de amostragem para determinação do rendimento no moinho ultracentrífugo, de aliquotas de cada uma das frações 16/40 mesh, obtidas no moinho de facas (Figura 2.7)



### 2.3.2 Moagem para análise química da madeira

O material obtido no moinho de facas que possibilitou a primeira determinação do rendimento em classes granulométricas (ponto 2.3.1.1), foi reunido obtendo-se uma amostra compósita para cada uma das cinco fracções, cada uma delas constituída pelo material proveniente das três malhas de saída, obtendo-se desta forma as cinco primeiras fracções para a análise química (Figura 2.7)

Após este procedimento, retirou-se uma aliquota de cada uma das fracções <16, 16/40 e 40/60 mesh, e foram moídas no moinho ultracentrífugo Retsch ZM 100, com uma malha de saída de 0,2 mm, obtendo-se assim as fracções que permitiram analisar o efeito da re-moagem na análise química (Figura 2.7). Estas amostras permitiram ainda verificar a influência da dimensão e da composição entre as cinco classes granulométricas iniciais.

Obtiveram-se desta forma as 32 amostras, 8 para cada árvore em estudo utilizadas na análise química, como se pode observar nas Figuras 2.7, 2.9 e 2.10.

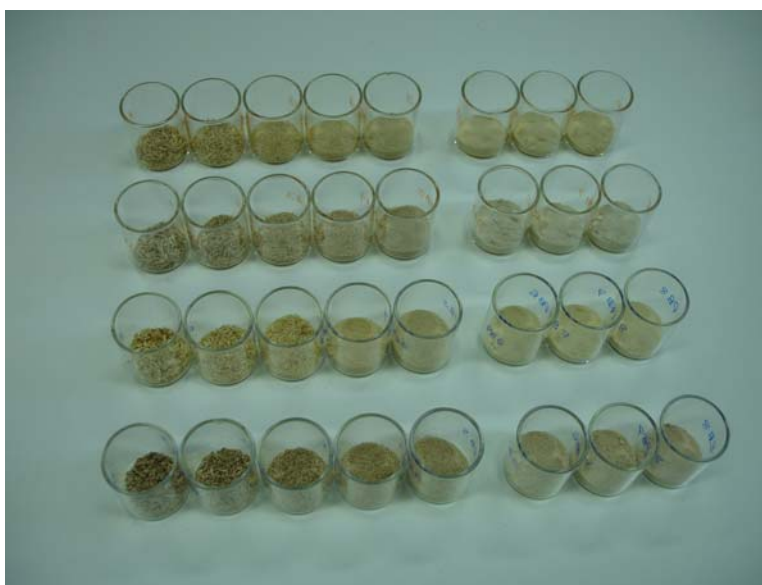


Figura 2.9 – Amostragem das 32 amostras destinadas à análise química.

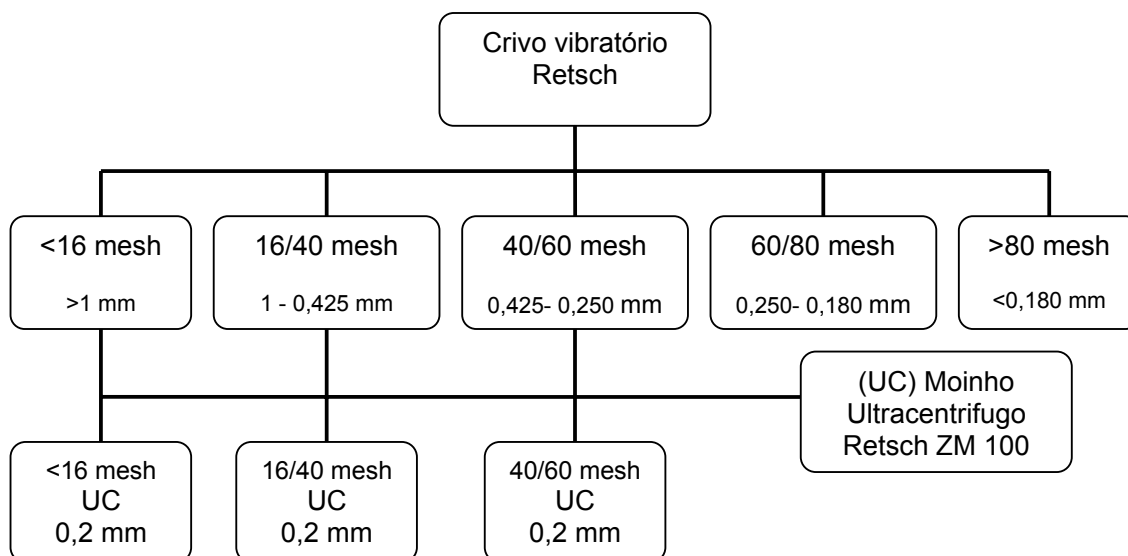


Figura 2.10 – Fracções iniciais e com re-moagem, destinadas a análise química.

### 2.3.3 Determinação quantitativa de extractivos

O teor de extractivos foi determinado sujeitando cada amostra a extracções sucessivas com solventes de polaridade crescente, nomeadamente diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), o menos polar, etanol ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ) e água ( $\text{H}_2\text{O}$ ), o mais polar, por método análogo ao Soxtec, ao qual nos referiremos daqui em diante simplesmente por Soxtec (Figura 2.11).



Figura 2.11 – Extracção de uma série de amostras pelo método de Soxtec.

Paralelamente foi determinado o teor de extractivos para 3 aliquotas da fracção 40/60 mesh de cada amostra compósita, utilizando o método de Soxhlet e para mais 3 aliquotas da referida fracção pelo método de Soxtec. Este procedimento permitiu comparar os dois métodos.

O método de Soxtec (Figura 2.12) consiste em colocar as amostras em dedos de extracção que se encontram suspensos dentro de balões de 250 ml, que contêm 110 ml de solvente. Quando o solvente entra em ebulição, mergulham-se os dedos de extracção no solvente durante 30 minutos, que consiste na *fase de percolação*, passada a qual se suspendem novamente acima do solvente, ficando nesta posição durante 1 hora, rodando lateralmente os dedos 90 graus sobre si mesmos a cada 15 minutos, a chamada *fase de extracção*. O procedimento é repetido para cada solvente.

No método de Soxhlet (Figura 2.12), os dedos são colocados dentro dos extractores Soxhlet, entrando em contacto directo com o solvente quando este evapora, entra dentro do tubo de Soxhlet e condensa, caindo sobre a amostra. Estas passagens sucessivas do solvente pelo dedo de extracção possibilitam a extracção. Utilizaram-se neste método balões de 250 ml com 150 ml de solvente e tempos de extracção diferentes consoante o solvente, diclorometano (6h), etanol (16h) e água (16h).



Figura 2.12 – Pormenor de extracção pelo método de Soxtec e pelo método de Soxhlet.

Foram ainda efectuadas duas extracções sequenciais para cada solvente, para as amostras A das fracções 60/80 e >80 mesh. Para as amostras B, nas fracções 60/80 e >80 mesh, efectuaram-se duas extracções sequenciais com diclorometano no caso do pinheiro, duas com etanol no caso do eucalipto e mais duas com água para as duas espécies. Estas extracções para as amostras A e B permitiram verificar se as primeiras extracções podiam ser consideradas completas.

## 2.4 Análise química

### 2.4.1 Determinação quantitativa da lenhina por via húmida

A determinação da lenhina total foi efectuada em duas etapas. Primeiramente foi efectuada a determinação da lenhina insolúvel nas amostras livres de extractivos, pelo método de Klason, segundo a norma T 222 om-88, que se baseia na hidrólise ácida dos polissacáridos com ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) concentrado a 72%, em banho-maria a 20°C durante 2 horas, seguido de diluição a 3%. De seguida procedeu-se a uma segunda hidrólise em autoclave a 120°C durante 1 hora. O resíduo sólido obtido após filtragem e secagem corresponde à lenhina insolúvel.

A lenhina solúvel – para o caso do eucalipto – foi determinada na solução diluída, por ultravioleta, medindo a sua absorvância a 205 nm num espectrofotómetro de marca Shimadzu UV-160 A, segundo a norma UM 250 (TAPPI, 1994). Esta determinação não foi efectuada para o pinheiro.

A percentagem de lenhina solúvel é calculada pela seguinte equação:

$$\% \text{ Lenhina Solúvel} = \frac{A_{205} \times \text{Volume inicial (ml)} \times \text{Factor de diluição} \times 100}{\epsilon \times \text{Massa seca (mg)}}$$

em que:

$A_{205}$  – Absorvância a 205 nm

$\epsilon$  – Absorptividade,  $110 \text{ g l}^{-1}\text{cm}^{-1}$

A lenhina total foi obtida como a soma das duas determinações efectuadas (Figura 2.13).

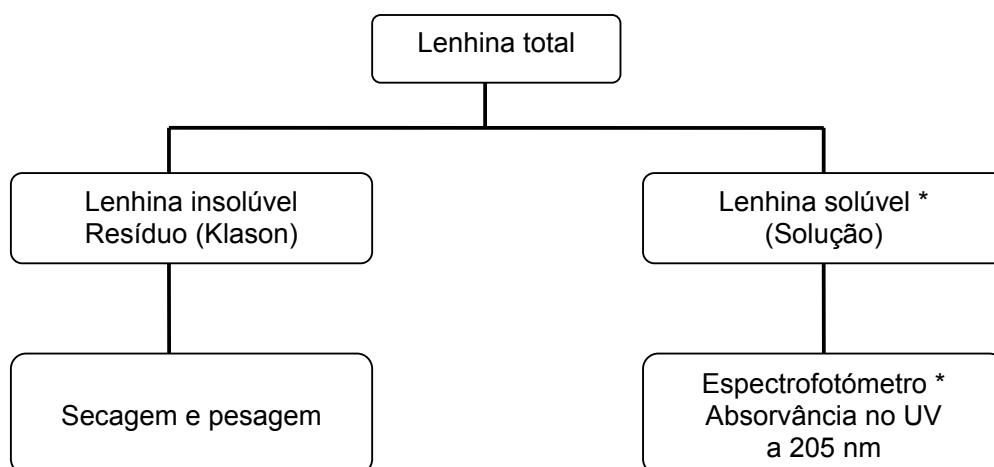


Figura 2.13 – Determinação da lenhina total. (\* Para o Eucalipto)

#### 2.4.2 Determinação quantitativa da lenhina por pirólise analítica

Pesaram-se  $75 \pm 2 \mu\text{g}$  de cada amostra livre de extractivos, moída num moinho Mixer 1000, para uma barqueta de quartzo, utilizando uma balança Mettler AT21, com uma precisão de  $1 \mu\text{g}$ .

A pirólise foi efectuada num pirólisador da Chemical Data System (CDS) modelo 1000 acoplado a um cromatógrafo gasoso modelo Agilent 6890, através de uma interface aquecida a  $270^\circ\text{C}$ . O pirolisado foi separado numa coluna capilar DB1701 de 60 metros com  $0,25 \text{ mm}$  de diâmetro interno e  $0,25 \mu\text{m}$  de espessura de filme. A temperatura da pirólise para o pinheiro foi de  $650^\circ\text{C}$  durante 10 segundos e para o eucalipto foi de  $600^\circ\text{C}$  durante 5 segundos, com tempos de subida de aproximadamente 800 ms. As condições do cromatógrafo gasoso incluíram injector a  $270^\circ\text{C}$ , detector a  $270^\circ\text{C}$  e uma razão de separação na injeção cromatográfica (split) de 1/20. O programa de temperatura foi de  $45^\circ\text{C}$  durante 4 minutos seguido de uma taxa de aquecimento de  $4^\circ\text{C min}^{-1}$  até atingir  $270^\circ\text{C}$ , onde permaneceu durante 6 minutos. Os produtos da pirólise foram detectados por um detector de chama (GC-FID).

#### 2.4.3 Obtenção dos espectros de ATR-FTIR

Os espectros de ATR-FTIR do resíduo Klason foram obtidos por um espectrómetro (Bruker, modelo Alpha-P) de Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e os espectros adquiridos por reflectância total atenuada (ATR-FTIR). Estes espectros resultam

de 32 Scans (varrimentos de leitura) e foram obtidos com uma resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$ . Para o tratamento da informação espectral foi utilizado o software OPUS.

#### 2.4.4 Métodos estatísticos

Para a realização da análise estatística que permitiu estudar a relação entre os diferentes dados, foram utilizados dois tipos de testes.

O teste de Grubbs permitiu comparar os teores obtidos nas cinco classes granulométricas, tanto para a determinação dos extractivos, por solvente e total, como para a determinação da lenhina Klason.

Para os extractivos, o teste de Grubbs foi efectuado tendo por base 4 repetições da fracção 40/60 mesh, por solvente e total, para cada amostra, conforme o procedimento indicado na norma Tappi T1205 rp-92, utilizando um G crítico de 5% e  $n=5$ . Foi utilizado  $n=4$  para obter a base composta pelas repetições da fracção 40/60 mesh e  $n=5$  para a comparar com cada uma das restantes fracções.

Para a lenhina, o teste foi efectuado para um G crítico de 5% e  $n=4$ , sendo a base composta pelas fracções 16/40, 40/60 e 60/80 mesh ( $n=3$ ) para o eucalipto e composta pelas cinco fracções ( $n=5$ ) para o pinheiro.

Para a restante análise estatística foi efectuada a estimação por intervalos de confiança para a diferença entre as médias dos valores obtidos, utilizando a distribuição t de Student, através do software Statistica (versão 6.0). Esta análise foi efectuada para estudar o efeito dimensão e o efeito composição entre as cinco classes granulométricas, na determinação quer dos extractivos, quer da lenhina Klason.

Para estudar o efeito dimensão, foram comparadas as fracções que apresentam diferentes dimensões e a mesma composição, isto é, as fracções <16 mesh, 16/40 mesh, 40/60 mesh versus as aliquotas originárias destas mesmas fracções, mas sujeitas a re-moagem no moinho ultracentrífugo com uma malha de saída de 0,2 mm (Figura 2.7).

Para o efeito composição, foi feita a comparação entre as fracções com diferente composição e a mesma dimensão, nomeadamente as fracções 60/80 mesh e >80 mesh versus as aliquotas das fracções <16 mesh, 16/40 mesh, 40/60 mesh sujeitas a re-moagem no moinho ultracentrífugo com uma malha de saída de 0,2 mm (Figura 2.7).

## 3 Resultados e Discussão

### 3.1 Efeito da moagem no rendimento granulométrico

#### 3.1.1 Efeito da moagem no moinho de facas com diferentes malhas de saída

A Figura 3.1 apresenta os rendimentos por classe granulométrica observados para as malhas de saída de 2 mm, com e sem espera e 1 mm com espera (Figura 2.7), para as quatro amostras em estudo. Verifica-se que a fracção 16/40 mesh, com um rendimento entre 50% e 70%, é sempre a mais representativa e a fracção 40/60 mesh, a que é normalmente usada na análise química, tem um rendimento inferior a 22%.

Verifica-se também que a grande variação obtida entre a dimensão da malha de saída (1 e 2 mm) e o tipo de malha (com e sem espera) ocorre no rendimento relativo das classes de partículas <16 e 16/40 mesh e em menor grau para a fracção 40/60 mesh, sendo similar o rendimento das restantes classes (Figura 3.1). A distribuição em classes granulométricas é mais influenciada pelo tipo de malha de saída (com e sem espera) do que pelo tamanho da malha (1 e 2 mm). De facto, para o mesmo tamanho de malha de saída (2 mm), a malha com espera origina um rendimento mais elevado da fracção <16 mesh e inversamente um rendimento inferior nas restantes fracções, embora mais pronunciado na fracção 16/40 mesh quando comparado com a malha de saída de 2 mm sem espera (Figura 3.1).

O teor de extractivos parece influenciar o fraccionamento, verificando-se que as amostras com mais elevado teor de extractivos de ambas as espécies (amostras B) apresentam um rendimento mais baixo na classe granulométrica <16 mesh e mais elevado na 16/40 mesh do que as amostras com baixo teor de extractivos (amostras A) (Figura 3.1).

Com a excepção da classe granulométrica <16 mesh, verifica-se que as malhas de saída de 2 mm sem espera e 1 mm com espera originam rendimentos semelhantes (Figura 3.1).

Sendo a classe granulométrica 40/60 mesh a mais frequentemente utilizada para a análise química apresenta-se o rendimento desta fracção na Figura 3.2. O maior rendimento é sempre obtido com a malha de saída de 1 mm com espera. Se a recomendação da norma Tappi quanto à não re-moagem do material for seguida, esta seria a malha de saída a utilizar, muito embora fosse desejável verificar os rendimentos da moagem com uma malha de saída de diâmetro inferior, por exemplo com 0,5 mm que já é próximo da malha de 40 mesh (0,425 mm).

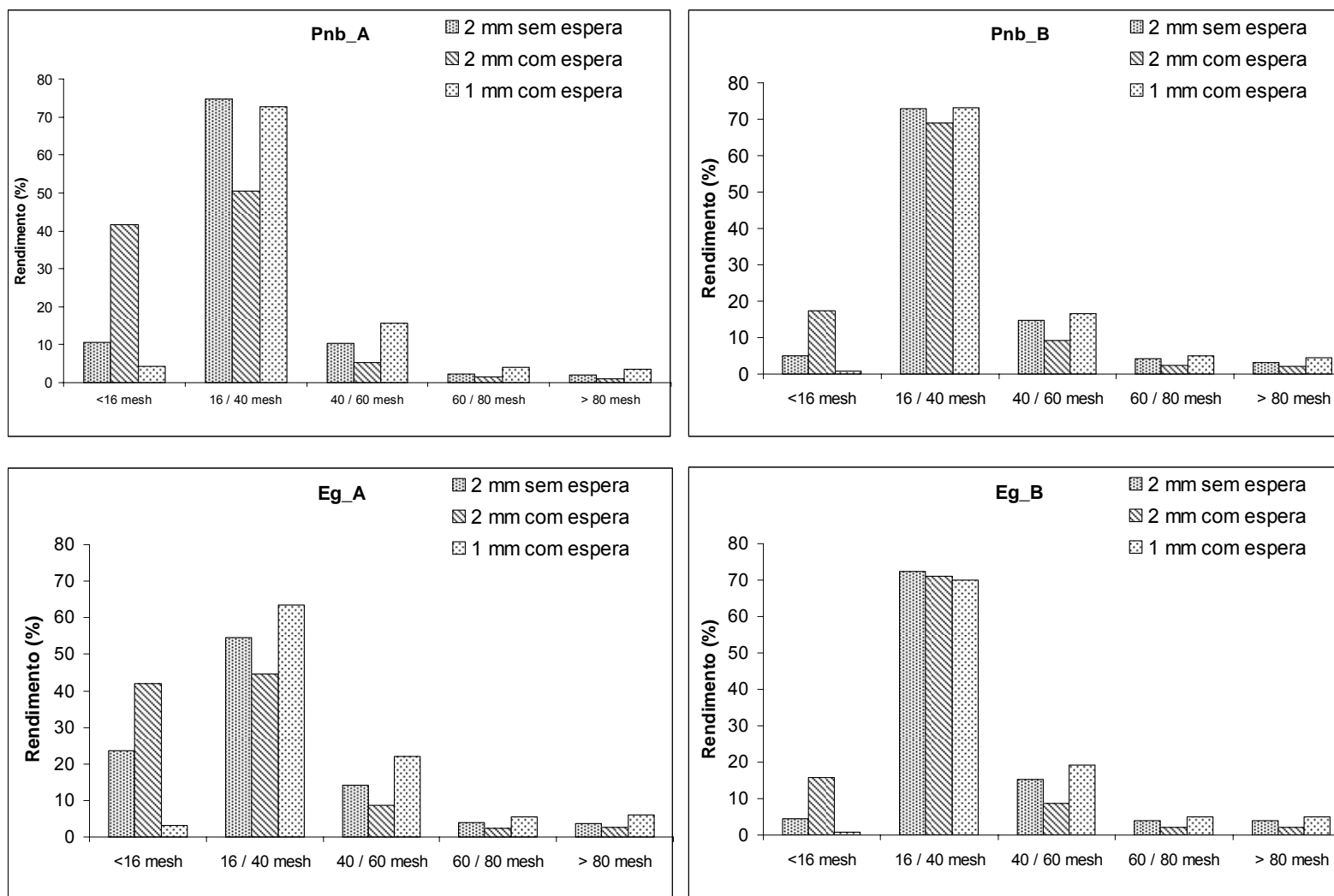


Figura 3.1 – Rendimento de moagem no moinho de facas para as três malhas de saída.



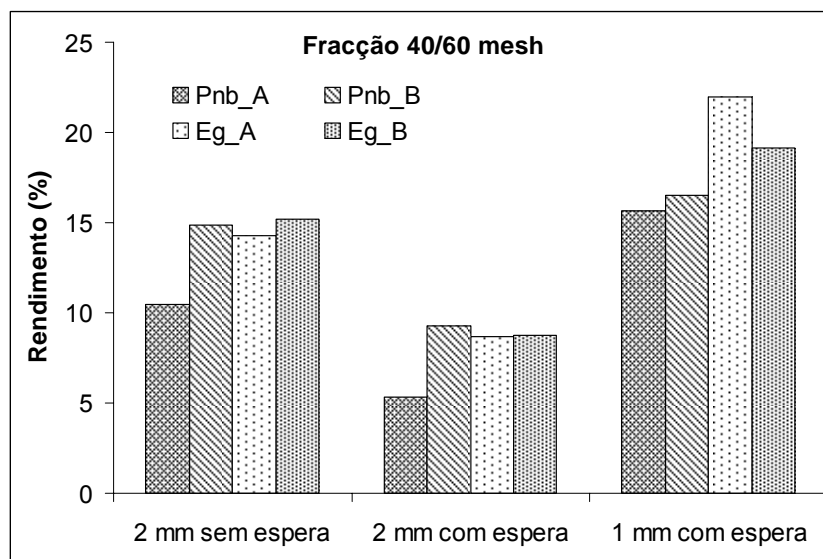


Figura 3.2 – Rendimento de moagem da fracção 40/60 mesh para as três malhas de saída.

No entanto em condições em que as dimensões das amostras são um factor limitante, por exemplo em amostragens não destrutivas com verruma de Pressler, o rendimento de 16 a 22% nesta fracção é limitativo, quando não impeditivo, da caracterização química.

### 3.1.2 Efeito da re-moagem no moinho ultracentrífugo com diferentes malhas de saída

No intuito de verificar a influência da re-moagem quer nos resultados do rendimento granulométrico, quer no rendimento da fracção 40/60 mesh com três malhas de saída (1 mm, 0,75 mm e 0,5 mm), alíquotas da fracção 16/40 mesh foram moídas num moinho ultracentrífugo da Retsch (Figura 2.8).

A Figura 3.3 A-C mostra o rendimento granulométrico médio da fracção 16/40 mesh obtida no ponto 3.1.1 para cada uma das malhas de saída, agora moídas separadamente no moinho ultracentrífugo com malhas de saída de 1 mm, 0,75 mm e 0,5 mm, respectivamente.

O rendimento da fracção 40/60 mesh no moinho ultracentrífugo é muito semelhante para as três malhas de saída e varia entre os 25 e os 42%, sendo este valor cerca de 2 vezes superior ao rendimento mais elevado do moinho de facas obtido com a malha de saída de 1 mm com espera. A grande variação entre as malhas é a diminuição do rendimento das fracções <40 mesh e o aumento do rendimento na fracção 60/80 mesh, e ainda mais evidente na fracção >80 mesh (Figura 3.3 A-C).

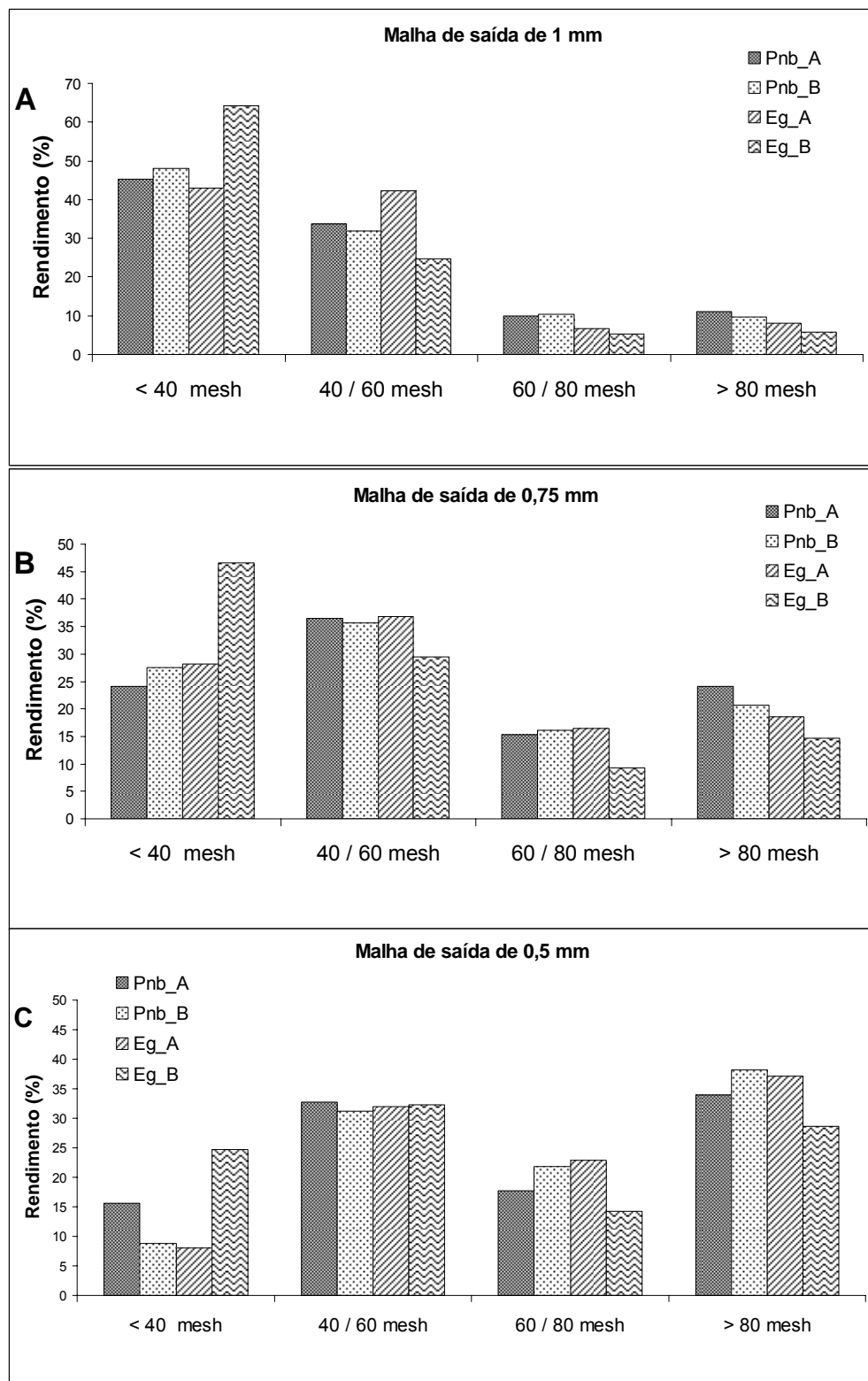


Figura 3.3 – Rendimentos médios da fracção 16/40 mesh re-moída no moinho ultracentrifugo com as malhas de saída de 1 mm (A), 0,75 mm (B) e 0,5 mm (C).

De facto, verifica-se o aumento de material de granulometria mais pequena com a diminuição da malha de saída (Figura 3.3 A-C).

O teor de extractivos parece influenciar o rendimento, em especial no caso do eucalipto. Como se pode observar, o eucalipto com teores de extractivos mais elevados (Eg\_B) tem sempre o rendimento mais elevado na fracção <40 mesh e o menor rendimento nas restantes fracções. (Figura 3.3 A-C). De notar que com o moinho de facas também se verificou uma aparente influência do teor de extractivos, mas as amostras com mais elevado teor de extractivos de ambas as espécies (amostras B) apresentaram um rendimento mais baixo na classe granulométrica <16 mesh do que as amostras com baixo teor de extractivos (amostras A) (Figura 3.1).

## 3.2 Extractivos

### 3.2.1 Influência da granulometria na determinação do teor de extractivos

O Quadro 3.1 mostra os teores de extractivos obtidos para as diferentes fracções granulométricas da amostra compósita (Figura 2.7) para as duas espécies, por solvente e respectivo total. A fracção 40/60 mesh é neste caso composta pela média de 4 repetições desta fracção, constituindo a amostra base que permitiu efectuar a análise dos teores obtidos, pelo teste de Grubbs.

Verifica-se uma tendência para um aumento do teor de extractivos das fracções mais grosseiras para as mais finas, embora na maior parte dos casos as diferenças entre fracções não fossem significativas de acordo com o teste de Grubbs. As excepções a este aumento ocorreram nos extractos em água, da fracção <16 mesh do Pnb\_B, no qual pode ter ocorrido um erro não detectado na determinação, e na extracção com água de ambos os eucaliptos em que os valores das diferentes fracções são semelhantes. As variações ocorridas podem considerar-se dentro do erro experimental do método, estando também de acordo com o teste de Grubbs, que mostrou diferenças não significativas para um G crítico de 5%.

Quando comparamos as amostras dos dois pinheiros verificamos que o aumento dos extractivos do Pnb\_B se deve ao aumento dos extractivos em diclorometano e água. Relativamente ao etanol, não se verificaram diferenças significativas para o teor de extractivos entre o Pnb\_A e o Pnb\_B. De notar que no caso do Pnb\_B, a maior variação

entre fracções se verifica na extracção com diclorometano, por exemplo o teor de extractivos da fracção >80 mesh é triplo do que ocorre na fracção <16 mesh.

Comparando as amostras dos dois eucaliptos verificamos que o aumento dos extractivos do Eg\_B se deve ao aumento dos extractivos em etanol e água, e que a maior variação entre fracções se verifica na extracção com etanol do Eg\_B, por exemplo o teor de extractivo da fracção >80 mesh é duplo da que ocorre na fracção <16 mesh.

Quadro 3.1 - Teores de extractivos para as diferentes fracções granulométricas e análise estatística de acordo com o teste de Grubbs.

		<16 mesh	16/40 mesh	40/60 mesh**	60/80 mesh	>80 mesh
Pnb_A	Dicloro	0,9	1,0	1,2	1,9	2,9 *
	Etanol	1,1	1,2	1,3	1,2	1,5
	Água	1,1	1,8	2,0	2,3	2,2
	Total	3,1	4,0	4,5	5,4	6,6 *
Pnb_B	Dicloro	2,3 *	2,7 *	3,5	5,3 *	6,6 *
	Etanol	1,0	1,0	1,2	1,4	2,4 *
	Água	6,3	5,2	5,2	5,8	7,4 *
	Total	9,6	9,0 *	10,0	12,4 *	16,4 *
Eg_A	Dicloro	0,2	0,2	0,2	0,3	0,4 *
	Etanol	1,0	1,1	1,3	1,4	2,0 *
	Água	0,7	0,9	1,1	0,8	1,1
	Total	2,0	2,2	2,6	2,5	3,5
Eg_B	Dicloro	0,2	0,4	0,3	0,5 *	0,6 *
	Etanol	4,2 *	4,8 *	5,6	6,0	8,1 *
	Água	3,5	4,0	3,7	3,8	3,3
	Total	8,0 *	9,1	9,7	10,3	12,1 *

\* Valores significativamente diferentes para um G crítico de 5% (n=5)

\*\* Amostra base, composta pela média de 4 repetições da mesma fracção (n=4)

Nos casos em que se encontraram diferenças significativas entre as fracções levanta-se a questão de se saber se estas diferenças ocorrem devido ao efeito dimensão das partículas ou se o fraccionamento origina uma composição diferencial entre as fracções.

Esta questão foi já objecto de estudo por parte de diversos investigadores. Por exemplo Seabra e Ramos (1958) verificaram que para a *Eucalyptus citriodora* os extractivos aumentavam com a finura das partículas, facto que atribuíram à maior solubilidade dos elementos finos. Já anteriormente Mahood e Cable (1922) atribuíram o efeito dimensão das partículas ao facto de terem obtido solubilidade em água mais elevada para as partículas mais finas da *Eucalyptus globulus*.

#### 3.2.1.1 Efeito da dimensão entre classes granulométricas

Para estudar o efeito da dimensão das partículas, isolando-o da ocorrência de uma possível composição diferencial entre as fracções, comparou-se o valor médio do teor de extractivos das três primeiras fracções da amostra compósita (<16 mesh, 16/40 e 40/60 mesh) com o valor médio do teor de extractivos obtido para aliquotas das mesmas fracções, sujeitas a re-moagem no moinho ultracentrífugo com uma malha de saída de 0,2 mm (Figura 2.7), por apresentarem as dimensões das fracções 60/80 e >80 mesh (dimensões inferiores a 0,250 mm). Desta forma, em princípio, a composição é a mesma e portanto as diferenças ocorridas nas extracções serão principalmente atribuídas ao tamanho das partículas. Os resultados obtidos, observados no Quadro 3.2 mostram que o efeito da dimensão das partículas é diminuto ou inexistente e não explica as variações encontradas entre classes (Quadro 3.1).

Como exemplo, na extracção do pinheiro com diclorometano, verificou-se que para o Pnb\_A os teores de extractivos obtidos são semelhantes e embora para o Pnb\_B se tenha encontrado uma diferença estatisticamente significativa entre as partículas originais (<16 mesh, 16/40 e 40/60 mesh) e as suas aliquotas re-moídas (<0,2 mm), ao contrário do que se poderia esperar o teor de extractivos foi mais elevado nas fracções mais grosseiras (<16 mesh, 16/40 e 40/60 mesh). Uma explicação plausível para este comportamento pode estar ligado à perda das fracções mais voláteis deste tipo de extractivos, que pode ocorrer durante a moagem fina no moinho ultracentrífugo, causada pelo possível aquecimento das amostras.

No caso do etanol, observa-se um aumento do teor de extractivos das fracções originais para as de menor diâmetro (<0,2 mm) que é estatisticamente significativo para as amostras de pinheiro (A e B) e para o eucalipto com mais baixo teor de extractivos (Eg\_A). De notar que este teste de comparação de médias é mais potente que o teste de Grubbs, facto que explica que para o Pnb\_A se tenham verificado diferenças significativas que não se encontraram para o teste de Grubbs no ponto 3.2.1.

No caso da água, verificou-se que não há diferenças significativas para todas as amostras.

Estes resultados contrariam as hipóteses de Mahood e Cable (1922) e de Seabra e Ramos (1958), que atribuíram ao efeito dimensão das partículas o facto de terem obtido solubilidade em água mais elevada para as partículas mais finas.

Quadro 3.2 – Comparação do valor médio e desvio padrão do teor de extractivos das fracções <16 mesh, 16/40 mesh e 40/60 mesh da amostra compósita, com o valor médio e desvio padrão do teor de extractivos obtido para aliquotas das mesmas fracções, após re-moagem (granulometria inferior a 0,2 mm).

		Extractivos das fracções <16 mesh, 16/40 mesh e 40/60 mesh 1ª moagem	Extractivos das fracções <16 mesh, 16/40 mesh e 40/60 mesh após re-moagem (<0,2 mm)
Pnb_A	Diclorometano	1,1 (0,3)	1,0 (0,1)
	Etanol	1,2 (0,1)	1,4 (0,0) *
	Água	1,5 (0,3)	2,0 (0,2)
	Total	3,7 (0,6)	4,5 (0,2)
Pnb_B	Diclorometano	2,9 (0,7)	2,3 (0,5) *
	Etanol	1,1 (0,1)	1,4 (0,0) *
	Água	5,5 (0,7)	5,0 (0,8)
	Total	9,5 (0,4)	8,6 (0,8)
Eg_A	Diclorometano	0,2 (0,0)	0,2 (0,0)
	Etanol	1,1 (0,1)	1,3 (0,1) *
	Água	0,8 (0,1)	1,2 (0,3)
	Total	2,2 (0,2)	2,7 (0,2)
Eg_B	Diclorometano	0,3 (0,1)	0,3 (0,0)
	Etanol	4,9 (0,8)	5,3 (0,5)
	Água	3,5 (0,4)	3,8 (0,5)
	Total	8,8 (0,7)	9,3 (1,0)

\* Valores significativamente diferentes

### 3.2.1.2 Efeito da composição entre classes granulométricas

Para isolar o efeito da possível variação na composição entre as diferentes fracções granulométricas, fixando a variável dimensão, comparou-se o valor médio do teor de extractivos das duas fracções de menores dimensões da amostra compósita (60/80 mesh e >80 mesh) com o valor médio do teor de extractivos obtido para aliquotas das três primeiras fracções (<16 mesh, 16/40 mesh e 40/60 mesh), sujeitas a re-moagem no moinho ultracentrífugo com uma malha de saída de 0,2 mm (Figura 2.7), por terem estas últimas, em princípio, a mesma composição das três primeiras classes granulométricas, que lhes deram origem. Desta forma é fixada a variável dimensão, atribuindo-se às diferenças encontradas no Quadro 3.3, o efeito da composição diferenciada entre as classes granulométricas.

Verifica-se que o teor de extractivos é mais elevado nas fracções 60/80 mesh e >80 mesh quando comparadas com as fracções < 0,2 mm, excepto para o extracto em água de ambas as amostras de eucalipto.

As diferenças encontradas são mais acentuadas para o diclorometano em ambas as amostras de pinheiro e para o etanol no caso do eucalipto com mais alto teor de extractivos (Eg\_B). Estas diferenças, estatisticamente significativas, conforme assinalado no Quadro 3.3, comprovam a influência do efeito composição entre as fracções mais grosseiras e as mais finas, encontradas no Quadro 3.1. (ponto 3.2.1)

Quadro 3.3 – Comparação do valor médio e desvio padrão do teor de extractivos das fracções 60/80 mesh e >80 mesh da amostra compósita, com o valor médio e desvio padrão do teor de extractivos das fracções <16 mesh, 16/40 mesh e 40/60 mesh, após re-moagem (granulometria inferior a 0,2 mm)

		Extractivos das fracções <16 mesh, 16/40 mesh e 40/60 mesh após re-moagem (<0,2 mm)	Extractivos das fracções 60/80 mesh e >80 mesh 1ª moagem
Pnb_A	Diclorometano	1,0 (0,1)	2,4 (0,5) *
	Etanol	1,4 (0,0)	1,4 (0,1)
	Água	2,0 (0,2)	2,3 (0,0)
	Total	4,5 (0,2)	6,0 (0,6)
Pnb_B	Diclorometano	2,3 (0,5)	6,0 (0,7) *
	Etanol	1,4 (0,0)	1,9 (0,5)
	Água	5,0 (0,8)	6,6 (0,8)
	Total	8,6 (0,8)	14,4 (2,0)
Eg_A	Diclorometano	0,2 (0,0)	0,4 (0,1)
	Etanol	1,3 (0,1)	1,7 (0,3)
	Água	1,2 (0,3)	1,0 (0,2)
	Total	2,7 (0,2)	3,0 (0,5)
Eg_B	Diclorometano	0,3 (0,0)	0,6 (0,0)
	Etanol	5,3 (0,5)	7,1 (1,1) *
	Água	3,8 (0,5)	3,6 (0,3)
	Total	9,3 (1,0)	11,2 (0,9) *

\* Valores significativamente diferentes



### 3.2.2 Influência da re-moagem na determinação do teor de extractivos

A Figura 3.4 mostra o efeito da re-moagem, efectuada por comparação individual das três primeiras fracções (<16 mesh, 16/40 e 40/60 mesh) com aliquotas das mesmas fracções sujeitas a re-moagem no moinho ultracentrífugo com uma malha de saída de 0,2 mm (Figura 2.7). Comparação semelhante foi já efectuada no ponto 3.2.1.1, mas para os valores médios dos teores obtidos e com uma diferente finalidade, aquando da análise do efeito dimensão das partículas entre classes granulométricas. Os resultados constantes no Quadro 3.2 revelaram que as diferenças encontradas para os valores médios entre as fracções iniciais (<16 mesh, 16/40 e 40/60 mesh) e as suas aliquotas sujeitas a re-moagem são diminutas ou inexistentes.

Por observação da Figura 3.4, verifica-se no entanto, o aumento do teor total de extractivos com a diminuição do tamanho da partícula, efectuada por re-moagem do material. A excepção verifica-se para o pinheiro com mais alto teor de extractivos (Pnb\_B), em que o efeito da re-moagem resulta numa diminuição do teor de extractivos.

Para o diclorometano, verifica-se tendencialmente uma diminuição do teor de extractivos com a re-moagem do material no caso do pinheiro, mantendo-se os valores constantes para o caso do eucalipto, enquanto que para o etanol se observa um aumento do teor de extractivos com a re-moagem.

No caso da água, observa-se também um aumento do teor de extractivos com a diminuição do tamanho da partícula por re-moagem, excepto para o Pnb\_B, em que estes valores se apresentam ligeiramente inferiores.

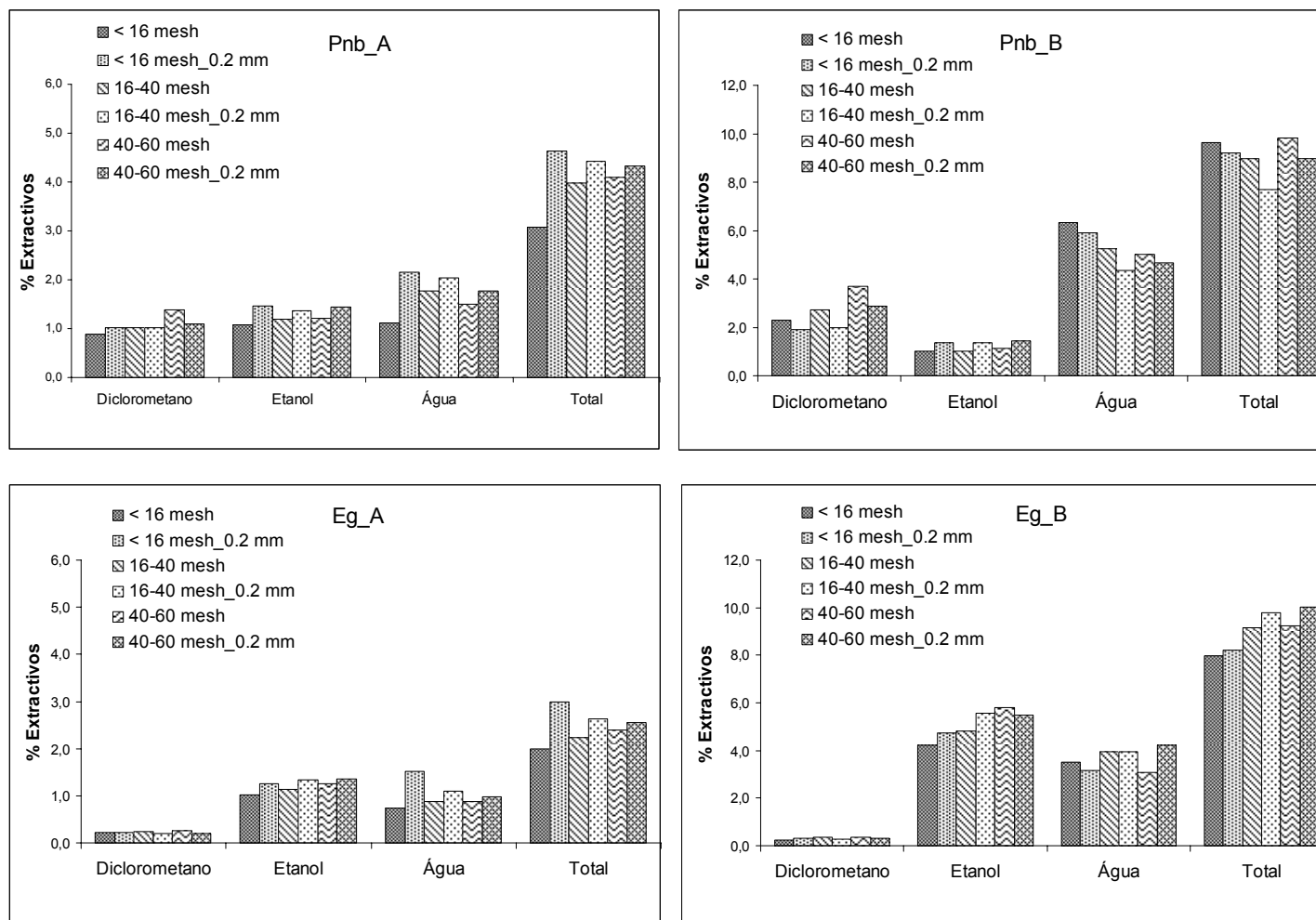


Figura 3.4 – Teores de extractivos com e sem re-moagem do material para as três primeiras frações.

## 3.2.3 Eficiência da extracção

O método de extracção utilizado não está normalizado, e uma dúvida que se levantava era saber se as extracções nas amostras com elevado teor de extractivos num determinado solvente eram completas ou influenciadas pela possibilidade de o solvente ficar saturado. Para verificar esta hipótese, para algumas amostras repetiu-se a extracção para o mesmo solvente (Quadro 3.4).

Quadro 3.4 – Teor de extractivos após primeira e segunda extracção para o mesmo solvente.

		Diclorometano		Etanol			Água		
		1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	% da 1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	% da 1 <sup>a</sup>
Pnb_A	60/80 mesh	1,6	0,1	1,3	0,1	8	2,2	0,4	18
	80 mesh	2,3	0,0	1,7	0,1	6	2,4	0,5	21
Pnb_B	60/80 mesh	5,1	0,0	1,3			5,0	0,7	14
	80 mesh	6,0	0,0	1,7			6,4	0,5	8
Eg_A	60/80 mesh	0,3	0,0	1,7	0,2	12	1,2	0,4	33
	80 mesh	0,4	0,0	2,1	0,2	10	1,7	0,4	24
Eg_B	60/80 mesh	0,3		6,3	0,4	6	3,3	0,7	21
	80 mesh	0,6		9,7	0,4	4	3,6	0,8	22

Dos resultados obtidos verifica-se que a extracção com diclorometano é sempre completa, mesmo no caso do Pnb\_B com valores entre 5 e 6%. É sabido que a extracção quer em etanol quer em água nunca é completa. No entanto verificamos que a segunda extracção extrai apenas entre 0,1 e 0,8% de extracto o que corresponde a uma variação entre 4 a 12% do que se extraiu na primeira, no caso do etanol e entre 8 a 33% no caso da água.

## 3.2.4 Comparação entre as extracções pelos métodos Soxhlet e Soxtec

Para cada um dos métodos, Soxhlet e Soxtec, foram utilizadas três aliquotas da fracção 40/60 mesh da amostra compósita (Figura 2.7), para ambas as espécies. Nas extracções com diclorometano e etanol obtiveram-se teores mais elevados para o método de Soxhlet, verificando-se o inverso com as extracções efectuadas com água, em que os maiores valores foram obtidos para o método de Soxtec. As diferenças entre os teores totais de extractivos pelos dois métodos foram diminutas (< 0,2%).

O Quadro 3.5 mostra os valores médios e o desvio padrão do teor de extractivos pelos métodos de Soxhlet e Soxtec.

Quadro 3.5 – Valores médios e desvio padrão do teor de extractivos de três aliquotas da fracção 40/60 mesh, utilizando os métodos de extracção Soxhlet e Soxtec.

		Soxhlet	Soxtec
Pnb_A	Diclorometano	1,4 (0,01)	1,1 (0,22)
	Etanol	1,4 (0,02)	1,4 (0,09)
	Água	2,2 (0,22)	2,2 (0,02)
	Total	4,9 (0,23)	4,7 (0,16)
Pnb_B	Diclorometano	3,5 (0,11)	3,5 (0,14)
	Etanol	1,4 (0,01)	1,2 (0,05) *
	Água	5,2 (0,23)	5,3 (0,23)
	Total	10,1 (0,21)	10,0 (0,20)
Eg_A	Diclorometano	0,2 (0,02)	0,2 (0,01)
	Etanol	1,5 (0,03)	1,4 (0,12)
	Água	1,0 (0,20)	1,1 (0,02)
	Total	2,7 (0,19)	2,7 (0,13)
Eg_B	Diclorometano	0,3 (0,03)	0,3 (0,02)
	Etanol	6,8 (0,07)	5,6 (0,12) *
	Água	2,8 (0,17)	3,9 (0,09) *
	Total	9,9 (0,25)	9,8 (0,06)

\* Valores significativamente diferentes

Por análise do Quadro 3.5, verifica-se que a média do teor de extractivos obtido por cada método é semelhante, apresentando diferenças significativas apenas para a extracção em etanol nas amostras com mais alto teor de extractivos (amostras B) e também para a extracção em água no caso do eucalipto com mais alto teor de extractivos (Eg\_B). Estas diferenças revelaram não ser significativas para o total de extractivos, pelo que qualquer dos métodos pode ser utilizado com a mesma precisão para avaliar o teor de extractivos.

### 3.3 Lenhina

#### 3.3.1 Influência da granulometria na determinação do teor de lenhina Klason

O Quadro 3.6 apresenta os teores de lenhina Klason obtidos para as duas amostras de pinheiro. Como se pode verificar têm ambas um teor de lenhina semelhante e verifica-se a não ocorrência de diferenças significativas, com a excepção da fracção <16 mesh. No caso do Pnb\_A verifica-se uma diminuição gradual do teor de lenhina Klason das fracções granulométricas mais grosseiras para as mais finas. O teor mais elevado na fracção <16 mesh, cerca de 2% mais elevado que a média dos restantes valores é significativamente diferente de acordo com o teste de Grubbs.

Quadro 3.6 – Teores de lenhina Klason para o pinheiro. Valores em percentagem do material seco e livre de extractivos.

	Classes granulométricas	Lenhina %
		Klason
Pnb_A	<16 mesh	28,0 *
	16/40 mesh	26,3
	40/60 mesh	26,0
	60/80 mesh	25,9
	>80 mesh	25,6
Pnb_B	<16 mesh	28,1 *
	16/40 mesh	25,9
	40/60 mesh	25,8
	60/80 mesh	26,1
	>80 mesh	26,7

\* Valores significativamente diferentes a 5% (n=4)

Amostra base, composta pelas cinco fracções (n=5)

No Quadro 3.7 apresentam-se os teores de lenhina Klason, lenhina solúvel e lenhina total das amostras de eucalipto. Nestas, quer na fracção <16 mesh, quer na fracção >80 mesh, obtiveram-se teores de lenhina Klason significativamente mais elevados que nas restantes fracções.

Quadro 3.7 – Teores de lenhina Klason, solúvel e total, para o eucalipto. Valores em percentagem do material seco e livre de extractivos.

	Classes granulométricas	Lenhina %		
		Klason	Solúvel	Total
Eg_A	<16 mesh	19,9 *	5,8	25,7
	16/40 mesh **	17,5	6,6	24,1
	40/60 mesh **	17,4	6,1	23,5
	60/80 mesh **	17,4	6,6	24,0
	>80 mesh	19,3 *	6,0	25,3
Eg_B	<16 mesh	23,3 *	5,1	28,5
	16/40 mesh **	19,6	5,3	24,9
	40/60 mesh **	18,0	5,0	23,0
	60/80 mesh **	18,9	5,4	24,4
	>80 mesh	21,0 *	5,3	26,3

\* Valores significativamente diferentes a 5% (n=4)

\*\* Amostra base, composta pelas fracções 16/40, 40/60 e 60/80 mesh (n=3)

O teor de lenhina mais elevado na fracção >80 mesh, no caso do eucalipto, tinha já sido referido por outros investigadores. Seabra e Ramos (1958) encontraram um teor de lenhina mais elevado nas fracções mais finas da *Eucalyptus citriodora* em comparação com a fracção 40/60 mesh, a fracção mais grosseira utilizada por estes investigadores. Estes autores referem outro trabalho com resultados semelhantes para a madeira de freixo (Mereweter, 1958).

Uma explicação para estes resultados, referida por Seabra e Ramos (1958) e proposta por Harris *et al.* (1934), baseia-se no possível enriquecimento das fracções mais finas em lamela média pelo facto de esta ser a zona mais frágil da parede celular e portanto mais susceptível de quebrar. Como a lamela média tem um teor de lenhina mais elevado,

esta podia de facto ser uma explicação razoável. No entanto, os resultados das amostras de pinheiro não se enquadram nesta explicação, especialmente o menor valor obtido para o Pnb\_A na fracção >80 mesh. Muito provavelmente o enriquecimento em material mais rico em lenhina que só ocorreu no caso do eucalipto, não será devido ao enriquecimento em lamela média mas mais provavelmente, ao enriquecimento em outros elementos celulares, como por exemplo em vasos e/ou parênquima. Assim se explicaria o diferente comportamento das duas espécies.

Quanto ao teor de lenhina mais elevado nas fracções mais grosseiras, uma explicação possível seria a maior dificuldade de impregnação dos reagentes químicos, como referem Seabra e Ramos (1958), possibilitando desta forma a ocorrência de reacções incompletas. Para tentar perceber o porquê destes valores mais elevados todos os resíduos foram analisados por infravermelho médio (ponto 3.3.4).

#### 3.3.1.1 Efeito da dimensão entre classes granulométricas

Com o intuito de se estudar o efeito da dimensão das partículas, à semelhança do efectuado no ponto 3.2.1.1, procedeu-se à comparação do valor médio do teor de lenhina Klason das fracções com a mesma composição química e diferente dimensão, nomeadamente as fracções 16/40 mesh, 40/60 mesh e 60/80 mesh da amostra compósita, com o valor médio do teor obtido para as aliquotas das três primeiras fracções (<16 mesh, 16/40 e 40/60 mesh), sujeitas a re-moagem no moinho ultracentrífugo com uma malha de saída de 0,2 mm (Figura 2.7). A fracção <16 mesh da amostra compósita não foi contabilizada para este efeito devido aos valores irregulares encontrados. Os valores médios e o desvio padrão do teor de lenhina apresentam-se no Quadro 3.8.

Verifica-se uma diminuição significativa do teor de lenhina das fracções originais para as de menor diâmetro (0,2 mm) para ambas as espécies nas amostras com mais baixo teor de extractivos (Pnb\_A e Eg\_A), o que sugere a influência do efeito dimensão entre as fracções mais grosseiras e as mais finas para estas amostras. As amostras com mais alto teor de extractivos (amostras B) não apresentam diferenças significativas, não se verificando influência do efeito dimensão das partículas nestes casos.

Quadro 3.8 – Comparação do valor médio e desvio padrão do teor de lenhina Klason das fracções 16/40 mesh, 40/60 mesh e 60/80 mesh da amostra compósita, com o valor médio e desvio padrão do teor obtido para as aliquotas das três primeiras fracções (<16 mesh, 16/40 e 40/60 mesh), após re-moagem (granulometria inferior a 0,2 mm)

	Lenhina das fracções 16/40 mesh, 40/60 mesh e 60/80 mesh 1ª moagem	Lenhina das fracções <16 mesh, 16/40 mesh e 40/60 mesh após re-moagem (<0,2 mm)
Pnb_A	26,1 (0,2)	25,9 (0,2) *
Pnb_B	25,9 (0,2)	25,7 (0,2)
Eg_A	17,4 (0,0)	16,4 (0,4) *
Eg_B	18,9 (0,8)	17,5 (0,8)

\* Valores significativamente diferentes

### 3.3.1.2 Efeito da composição entre classes granulométricas

À semelhança do efectuado no ponto 3.2.1.2, apresentam-se agora no Quadro 3.9 os valores médios e o desvio padrão do teor de lenhina para fracções com diferente composição química e mesma dimensão, nomeadamente as fracções 60/80 mesh e >80 mesh e as aliquotas das três primeiras fracções sujeitas a moagem no moinho ultracentrífugo com uma malha de saída de 0,2 mm (Figura 2.7).

Verifica-se igualmente uma diminuição do teor de lenhina das fracções originais para as de diâmetro 0,2 mm, sendo esta significativa apenas para a amostra de eucalipto com mais baixo teor de extractivos (Eg\_A). Para as restantes amostras não existe diferença entre as fracções com a mesma dimensão e diferente composição, no que respeita à determinação do teor de lenhina Klason.



Quadro 3.9 – Comparação do valor médio e desvio padrão do teor de lenhina Klason das fracções 60/80 mesh e >80 mesh da amostra compósita, com o valor médio e desvio padrão do teor obtido para as aliquotas das três primeiras fracções (<16 mesh, 16/40 e 40/60 mesh), após re-moagem (granulometria inferior a 0,2 mm)

	Lenhina das fracções <16 mesh, 16/40 mesh e 40/60 mesh após re-moagem (<0,2 mm)	Lenhina das fracções 60/80 mesh e >80 mesh 1ª moagem
Pnb_A	25,9 (0,2)	25,8 (0,1)
Pnb_B	25,7 (0,2)	26,4 (0,3)
Eg_A	16,4 (0,4)	18,4 (1,0) *
Eg_B	17,5 (0,8)	20,0 (1,0)

### 3.3.2 Influência da re-moagem na determinação do teor de lenhina Klason

O Quadro 3.10 mostra o efeito da re-moagem, efectuada por comparação individual das três primeiras fracções (<16 mesh, 16/40 e 40/60 mesh) com aliquotas das mesmas fracções sujeitas a re-moagem no moinho ultracentrífugo com uma malha de saída de 0,2 mm (Figura 2.7).

Quadro 3.10 – Teores de lenhina Klason com e sem re-moagem para as três primeiras fracções.

	<16 mesh	<16 mesh 0,2 mm *	16/40 mesh	16/40 mesh 0,2 mm *	40/60 mesh	40/60 mesh 0,2 mm *
Pnb_A	28,0	26,1	26,3	25,9	26,0	25,7
Pnb_B	28,1	25,8	25,9	25,5	25,8	25,7
Eg_A	19,9	16,3	17,5	16,9	17,4	16,1
Eg_B	23,3	16,8	19,6	17,4	18,0	18,3

\* Aliquotas sujeitas a re-moagem (granulometria inferior a 0,2 mm)

Verifica-se que as amostras sujeitas a re-moagem apresentam valores ligeiramente inferiores de lenhina Klason, relativamente às fracções não sujeitas a re-moagem. Para a fracção <16 mesh, verifica-se uma variação significativa entre as amostras originais e as sujeitas a re-moagem, facto que salienta mais uma vez a possibilidade de ter ocorrido uma reacção incompleta na referida fracção aquando da hidrólise para a determinação da lenhina Klason.

### 3.3.3 Comparação entre os métodos Klason e Pirólise analítica para a quantificação do teor de lenhina

O Quadro 3.11 apresenta os resultados obtidos na determinação do teor de lenhina pelo método de Klason e por pirólise analítica, para as cinco fracções da amostra compósita (Figura 2.7) para ambas as espécies, de forma a tornar possível a comparação dos teores obtidos pelos dois métodos.

Por observação do Quadro 3.11, verifica-se que o teor de lenhina obtido por pirólise analítica apresenta valores inferiores aos obtidos pelo método de Klason, tal como foi verificado para o pinheiro por Alves 2004.

Por comparação das médias obtidas para o teor de lenhina por pirólise analítica com as médias obtidas pelo método de Klason (Quadro 3.11), observou-se uma diferença de 3% para o pinheiro e uma diferença de 5% para o eucalipto.

Os teores obtidos por pirólise analítica salientam, de facto, a existência de situações anómalas nos teores de lenhina determinados pelo método Klason na fracção <16 mesh para as duas espécies em estudo, o que parece indicativo da ocorrência de uma hidrólise incompleta nas fracções mais grosseiras. No caso das amostras de eucalipto, verifica-se que também a fracção >80 mesh apresenta teores mais elevados relativamente às restantes fracções, como verificado anteriormente para o método Klason, o que comprova, de facto, a existência de maior teor de lenhina nesta fracção.

### 3.3.4 Resíduo Klason analisado por Infravermelho médio

A análise dos resíduos Klason foi efectuada por Infravermelho médio de forma a reforçar a explicação para os valores elevados de teor de lenhina Klason encontrados no ponto 3.3.1, nas fracções mais grosseiras para ambas as espécies.

As Figuras 3.5 e 3.6 mostram-nos os espectros ATR-FTIR do resíduo Klason obtidos a partir de cada uma das fracções granulométricas das amostras de pinheiro bravo e das amostras de eucalipto, respectivamente.

Quadro 3.11 – Determinação do teor de lenhina pelos métodos Klason e Pirólise analítica.

	Pnb_A		Pnb_B		Eg_A		Eg_B	
	Klason	Py-lenhina	Klason	Py-lenhina	Klason	Py-lenhina	Klason	Py-lenhina
<16 mesh	28,0	22,8	28,1	23,2	19,9	23,3	23,3	24,5
16/40 mesh	26,3	23,0	25,9	23,4	17,5	23,7	19,6	23,7
40/60 mesh	26,0	22,8	25,8	22,0	17,4	23,8	18,0	24,9
60/80 mesh	25,9	23,1	26,1	24,0	17,4	24,1	18,9	24,2
>80 mesh	25,6	23,0	26,7	23,6	19,3	24,5	21,0	26,8
Média	26,4	22,9	26,5	23,2	18,3	23,9	20,2	24,8
$\sigma$	0,95	0,13	0,95	0,75	1,20	0,45	2,06	1,19
CV%	3,6	0,6	3,6	3,2	6,6	1,9	10,2	4,8

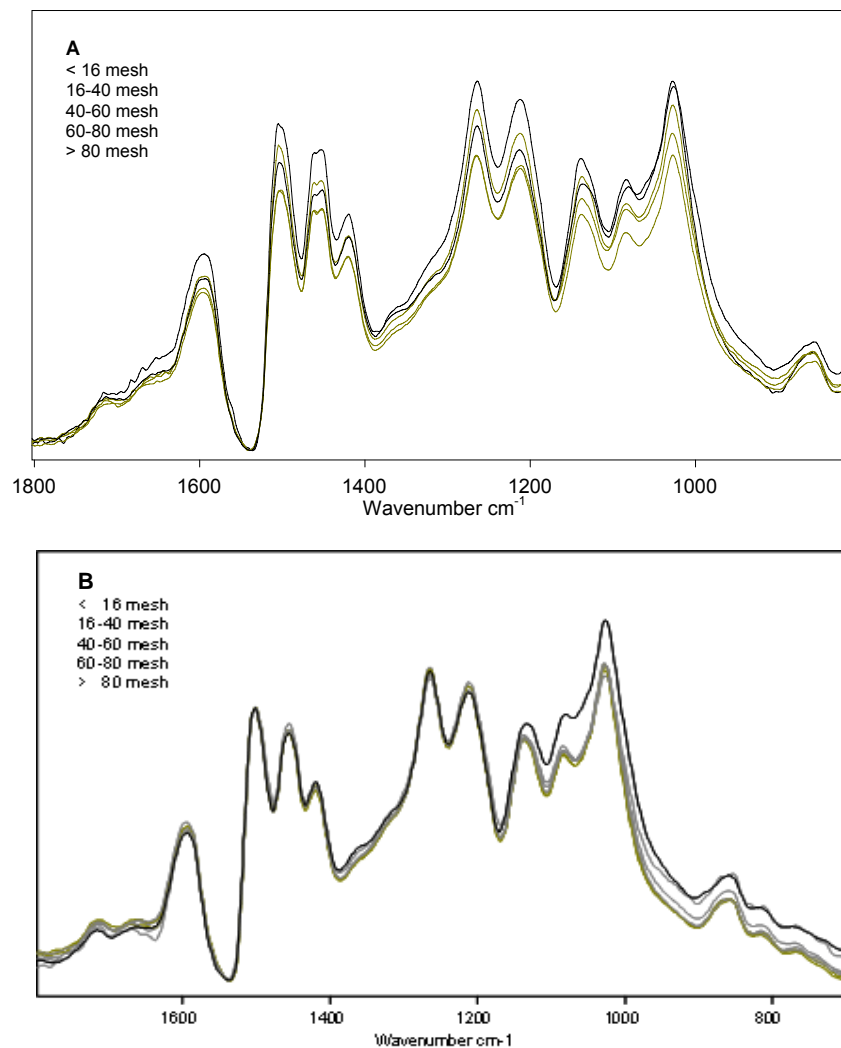


Figura 3.5 – Espectros ATR-FTIR, normalizados a  $1505 \text{ cm}^{-1}$ , do resíduo Klason obtido a partir das fracções <16 mesh a >80 mesh, das amostras de *Pinus pinaster* Pnb\_A (A) e Pnb\_B (B). Os espectros correspondentes à fracção <16 mesh (negrito), destacam-se na região dos polissacáridos entre os  $1075$  e os  $1000 \text{ cm}^{-1}$ . Para a amostra de pinheiro Pnb\_A (A), evidencia-se também a banda dos polissacáridos entre os  $1075$  e os  $1000 \text{ cm}^{-1}$  na fracção 16/40 mesh.

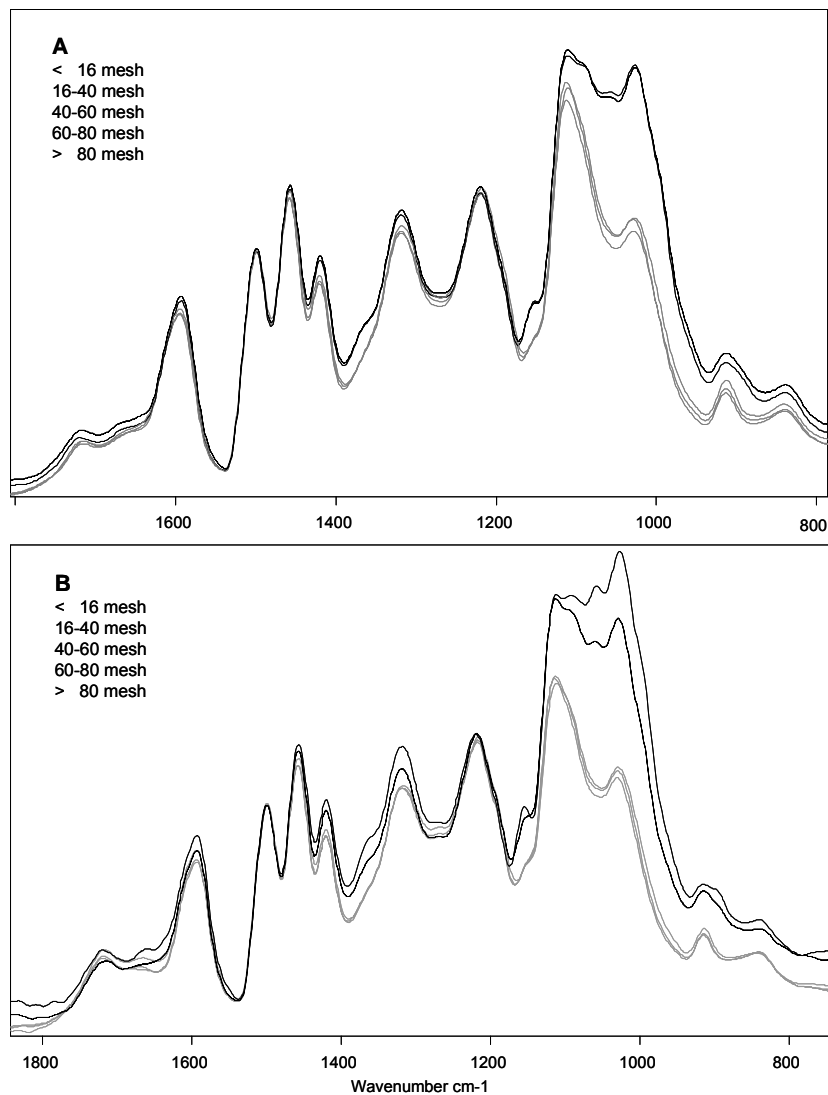


Figura 3.6 -Espectros ATR-FTIR do resíduo Klason obtidos a partir de cada uma das frações granulométricas das amostras de *Eucalyptus globulus* Eg\_A (A) e Eg\_B (B) entre menor do que 16 e maior do que 80 mesh. Os espectros foram normalizados a 1505 cm<sup>-1</sup>. As duas amostras que evidenciam a banda dos polissacáridos entre os 1075 e os 1000 cm<sup>-1</sup> são os resíduos da fração <16 mesh (negrito) e da fração 16/40 mesh (tracejado).

Por análise dos espectros ATR-FTIR do resíduo Klason observados na Figura 3.5 para o pinheiro, evidencia-se a banda dos polissacáridos entre os 1075 e os 1000  $\text{cm}^{-1}$  para a fracção <16 mesh para ambas as amostras e também para a fracção 16/40 mesh no caso da amostra de pinheiro com baixo teor de extractivos (A). Estas bandas comprovam ter ocorrido uma hidrólise incompleta para as fracções indicadas.

Quanto ao eucalipto, na análise dos espectros ATR-FTIR do resíduo Klason apresentados na Figura 3.6, destaca-se a banda dos polissacáridos entre os 1075 e os 1000  $\text{cm}^{-1}$ , para as fracções <16 mesh e 16/40 mesh. Este facto comprova ter ocorrido hidrólise incompleta não só na fracção <16 mesh mas também na fracção 16/40 mesh, o que nos leva a concluir que o valor apresentado para esta última fracção no quadro 3.7 está incorrecto e necessitaria de mais repetições de forma a encontrar uma explicação para o sucedido.

A presença dos polissacáridos no resíduo Klason não era de esperar, uma vez que a lenhina se distingue destes por ser insolúvel em reagentes capazes de dissolver a celulose e as hemiceluloses, o que comprova, de facto, a ocorrência de uma hidrólise incompleta, por dificuldade de impregnação dos reagentes químicos nas fracções mais grosseiras, como referido por Seabra e Ramos (1958).

## 4 Conclusões

No presente trabalho, verificou-se que a preparação da amostra, nomeadamente o fraccionamento e a re-moagem, influenciam os resultados da análise da composição química da madeira de pinheiro e de eucalipto.

A moagem com o moinho de facas, independentemente da malha de saída, originou um rendimento relativamente baixo da fracção 40/60 mesh (<22%). A alta representatividade da fracção 16/40 mesh foi constante para todas as amostras.

A distribuição granulométrica é mais influenciada pelo tipo de malha de saída (com e sem espera) do que pela dimensão (1 e 2 mm) e é semelhante para as duas espécies (pinheiro e eucalipto). Verificou-se no geral a proximidade dos rendimentos obtidos para as malhas de saída de 2 mm sem espera e 1 mm com espera. (Figura 3.1)

O teor de extractivos parece influenciar a distribuição granulométrica, verificando-se que as amostras com mais elevado teor de extractivos de ambas as espécies (amostras B) apresentam um rendimento diferente do verificado para as amostras com baixo teor de extractivos (amostras A), nas fracções <16 mesh e 16/40 mesh. (Figura 3.1).

Em relação ao moinho ultracentrífugo, o rendimento obtido para a fracção 40/60 mesh foi muito semelhante para as três malhas de saída utilizadas, sendo pelo menos 2 vezes superior ao obtido no moinho de facas. (Figura 3.2 e 3.3). O teor de extractivos parece influenciar o rendimento, em especial no caso do eucalipto.

Verifica-se uma tendência para ocorrer um aumento do teor de extractivos das fracções mais grosseiras para as mais finas. (Quadro 3.1). Este facto deve-se não tanto à dimensão das partículas por si só (Quadro 3.2) mas à ocorrência de uma composição diferenciada entre as fracções mais grosseiras e as mais finas, decorrente da primeira moagem no moinho de facas (Quadro 3.3). Como os teores de extractivos são maiores nas granulometrias mais finas, isto parece indicar que os elementos com teor de extractivos mais elevado em cada amostra são mais friáveis e portanto mais susceptíveis de partir.

Verifica-se que as amostras sujeitas a re-moagem apresentam um teor de extractivos ligeiramente superior ao obtido para as fracções não sujeitas a re-moagem, sendo este aumento não significativo.

Para as amostras de pinheiro, todas as fracções apresentaram valores semelhantes quanto aos teores de lenhina Klason, excepto a fracção <16 mesh de ambas as amostras, que apresentaram teores significativamente mais elevados (Quadro 3.6). Esta diferença é indicativa da ocorrência de uma hidrólise incompleta nesta fracção, o que foi confirmado

pela análise do resíduo Klason através de Infravermelho médio, que revelou igualmente a presença de polissacáridos residuais na fracção 16/40 mesh no caso do Pnb\_A, indicando portanto uma hidrólise incompleta também para esta fracção.

Para as amostras de eucalipto, quer a fracção <16 mesh, quer a fracção >80 mesh mostraram ter teores de lenhina Klason significativamente mais elevados do que as restantes fracções. (Quadro 3.7). Por análise do resíduo Klason efectuada por Infravermelho médio, verificou-se a presença de polissacáridos no resíduo, não só para a fracção <16 mesh, como também para a fracção 16/40 mesh, o que comprova a ocorrência de hidrólises incompletas para estas duas fracções, aquando da determinação da lenhina pelo método de Klason.

Quanto à existência de um maior teor de lenhina na fracção mais fina (>80 mesh), confirmado por pirólise analítica (Quadro 3.11), uma explicação plausível baseia-se no possível enriquecimento das fracções mais finas em material rico em lenhina, revelando uma composição diferencial entre esta e as restantes fracções.

Em relação ao teor de lenhina Klason, verificou-se a influência do efeito dimensão, com a diminuição do teor de lenhina entre as fracções mais grosseiras e as mais finas para as amostras com mais baixo teor de extractivos (amostras A) de ambas as espécies.

O efeito composição mostrou exercer maior influência do que o efeito dimensão das partículas para o caso do eucalipto. É exemplo a fracção >80 mesh, que apresenta teores mais elevados de lenhina quando comparada com as restantes fracções, conforme referido anteriormente. (Quadro 3.7)

Verifica-se que as amostras sujeitas a re-moagem apresentam teores de lenhina Klason ligeiramente inferiores aos obtidos para as fracções não sujeitas a re-moagem.

De uma forma geral, a fracção 40/60 mesh, actualmente uma das mais utilizadas, comprovou ter, de facto, maiores vantagens para efeitos de análise química da madeira relativamente à fracção <40 mesh, por apresentar dimensões que facilitam a execução dos trabalhos de preparação das amostras e de análise química, sem comprometer o rigor dos resultados obtidos. Como limitação temos apenas o seu baixo rendimento com o moinho de facas, o qual torna esta fracção limitada para caracterização química quando existe pouca quantidade de amostra, como é o caso, por exemplo, das amostragens não destrutivas com verruma de Pressler.



## 5 Referências bibliográficas

- Alves, A. 2004. *Caracterização da Composição Química da Madeira de pinheiro bravo (Pinus pinaster Aiton) por Pirólise Analítica*. Tese de Mestrado, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.
- Alves, A., Schwanninger, M., Pereira, H., Rodrigues, J. 2006. Calibration of NIR to assess lignin composition (H/G ratio) in maritime pine wood using analytical pyrolysis as the reference method. *Holzforschung*, 60: 29-31.
- Bettazzi, F., Giachi, G., Staccioli, G., Chimichi, S. 2003. Chemical characterisation of wood of roman ships brought to light in the recently discovered ancient harbour of Pisa (Tuscany, Italy). *Holzforschung*, 57: 373-376.
- Chantre, G., Rozenberg, P., Baonza, V., Macchioni, N., Le Turcq, A., Rueff, M., Petit-Conil, M., Heois, B. 2002. Genetic selection within Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*) in Europe for papermaking uses. *Annals of Forest Science*, 59: 583-593.
- Chiang VL, Yu J, Eckert RC. 1990. Isothermal Reaction-Kinetics of Kraft Delignification of Douglas-Fir. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 10: 293-310.
- Dai, Q. Z., Jameel, H., Chang, H. M., Kadla, J. F. 2004. Bleachability of kraft pulps from earlywood and latewood of fast-growing loblolly pine. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 24: 357-370.
- Fengel, D. e Wegener, G. 1989. *Wood: Chemistry, ultrastructure, reactions*. Walter de Gruyter. Berlin.
- Furuno, H., Takano, T., Hirose, S., Kamitakahara, H., Nakatsubo, F. 2006. Chemical structure elucidation of total lignins in woods. Part II: Analysis of a fraction of residual wood left after MWL isolation and solubilized in lithium chloride/N,N-dimethylacetamide. *Holzforschung*, 60: 653-658.
- Harris, E.E., Herrard, E.C. e Mitchell, R.L. 1934. *American Chemical Society*, 56, 889 (citado por Mereweter, 1958)

- He L.F., Terashima, N. 1990. Formation and Structure of Lignin in Monocotyledons .3. Heterogeneity of Sugarcane (*Saccharum-Officinarum* L) Lignin with Respect to the Composition of Structural Units in Different Morphological Regions. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 10: 435-459.
- Lai Y.Z., Guo X.P., Situ, W. 1990. Estimation of Phenolic Hydroxyl-Groups in Wood by a Periodate-Oxidation Method. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 10: 365-377.
- Lu W.D., Wang P.Q., Liao P.Y. 1990. Isolation and Analysis of the Hemicelluloses of the Fossil Tree (*Metasequoia-Glyptostroboides*). *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 10: 123-132.
- Mahood, S. A. e Cable, D. E., 1922. The analysis of the wood of *Eucalyptus globules* and *Pinus Monticola*, The chemistry of wood, *The journal of industrial and engineering chemistry*: 933-934.
- Martin-Benito, D., Garcia-Vallejo, M. C., Pajares J. A., Lopez, D. 2005. Triterpenes in elms in Spain. *Canadian Journal of Forest Research*, 35: 199-205.
- Matsumoto, Y., Ishizu, A., Nakano, J., Terasawa, K. 1984. Residual Sugars in Klason Lignin. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 4: 321-330.
- Mereweter, J. W. T. 1958. Il complesso lignina-carboidrati nel legno. *Cellulosa e Carta*, Ano IX, nº 4. Aprile. Roma.
- Raymond, C. A., Schimleck, L. R. 2002. Development of near infrared reflectance analysis calibrations for estimating genetic parameters for cellulose content in *Eucalyptus globulus*. *Canadian Journal of Forest Research*, 32, 170-176.
- Rodrigues, J.C. 1998. *Caracterização da Composição Química da Madeira de Eucalyptus globulus Labill. por Espectroscopia de Infravermelho e Pirólise Analítica*. Tese de Doutorado, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.

- Schimleck, L. R., Kube, P. D., Raymond, C. A. 2004. Genetic improvement of kraft pulp yield in *Eucalyptus nitens* using cellulose content determined by near infrared spectroscopy. *Canadian Journal of Forest Research*, 34: 2363-2370.
- Seabra, L. e Ramos, M. N., 1958. Acerca da preparação de serradura para análise química, *Garcia de Orta*, Vol. 6, nº 3: 477-506, Lisboa.
- Tai, D. S., Chen, C.L., Gratzl, J. S. 1990. Chemistry of Delignification during Kraft Pulping of Bamboos. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 10: 75-99.
- TAPPI.1994. TAPPI test methods 1994-1995. TAPPI Press, Atlanta.
- UM 250, Useful Methods, TAPPI, 1994.
- Yeh, T.F., Goldfarb, B. Chang, H.M., Peszlen, I., Braun, J.L., Kadla, J.F. 2005. Comparison of morphological and chemical properties between juvenile wood and compression wood of loblolly pine, *Holzforschung*, 59: 669-674.

## 6 Anexos

Anexo 1 – Correspondência entre unidades mesh, micrómetros e milímetros para as 8 amostras de cada árvore em estudo.

Amostra	mesh	micrómetros	milímetros
XY_16	<16 mesh	>1000 micrómetros	>1 mm
XY_16/40	16/40 mesh	1000-425 micrómetros	1-0.425 mm
XY_40/60	40/60 mesh	425-250 micrómetros	0,425-0,250 mm
XY_60/80	60/80 mesh	250-180 micrómetros	0,250-0.180 mm
XY_80	>80 mesh	<180 micrómetros	<0.180 mm
XY_0,2_16	0,2_16	200 micrómetros	0,2 mm
XY_0,2_16/40	0,2_16/40	200 micrómetros	0,2 mm
XY_0,2_40/60	0,2_40/60	200 micrómetros	0,2 mm

X – Espécie (Pnb, Eg) ; Y – Exemplar da Espécie (A, B)

Anexo 2 – Teores de extractivos em cada um dos solventes, teores totais de extractivos e teores de lenhina Klason das amostras de Pinheiro bravo.

	Classes granulométricas	Extractivos%				Lenhina%
		Diclorometano	Etanol	Água	Total	Klason
Pnb_A	<16 mesh	0,9	1,1	1,1	3,1	28
	16/40 mesh	1,0	1,2	1,8	4,0	26,3
	40/60 mesh	1,4	1,2	1,5	4,1	26
	60/80 mesh	1,9	1,2	2,3	5,4	25,9
	>80 mesh	2,9	1,5	2,2	6,6	25,6
	<16 mesh_0.2	1,0	1,5	2,2	4,6	26,1
	16/40 mesh_0.2	1,0	1,4	2,0	4,4	25,9
	40/60 mesh_0.2	1,1	1,5	1,8	4,3	25,7
Pnb_B	<16 mesh	2,3	1,0	6,3	9,6	28,1
	16/40 mesh	2,7	1,0	5,2	9,0	25,9
	40/60 mesh	3,7	1,1	5,0	9,8	25,8
	60/80 mesh	5,3	1,4	5,8	12,4	26,1
	>80 mesh	6,6	2,4	7,4	16,4	26,7
	<16 mesh_0.2	1,9	1,4	5,9	9,2	25,8
	16/40 mesh_0.2	2,0	1,4	4,4	7,7	25,5
	40/60 mesh_0.2	2,9	1,4	4,7	9,0	25,7

Anexo 3 – Teores de extractivos em cada um dos solventes, teores totais de extractivos e teores de lenhina Klason das amostras de Eucalipto.

	Classes granulométricas	Extractivos%				Lenhina%		
		Diclorometano	Etanol	Água	Total	Klason	Solúvel	Total
Eg_A	<16 mesh	0,2	1,0	0,7	2,0	19,9	5,8	25,7
	16/40 mesh	0,2	1,1	0,9	2,2	17,5	6,6	24,1
	40/60 mesh	0,3	1,3	0,9	2,4	17,4	6,1	23,5
	60/80 mesh	0,3	1,4	0,8	2,5	17,4	6,6	24,0
	>80 mesh	0,4	2,0	1,1	3,5	19,3	6,0	25,3
	<16 mesh_0.2	0,2	1,3	1,5	3,0	16,3	7,5	23,8
	16/40 mesh_0.2	0,2	1,3	1,1	2,6	16,9	6,3	23,2
	40/60 mesh_0.2	0,2	1,4	1,0	2,6	16,1	6,5	22,6
Eg_B	<16 mesh	0,2	4,2	3,5	8,0	23,3	5,1	28,5
	16/40 mesh	0,4	4,8	4,0	9,1	19,6	5,3	24,9
	40/60 mesh	0,4	5,8	3,1	9,2	18,0	5,0	23,0
	60/80 mesh	0,5	6,0	3,8	10,3	18,9	5,4	24,4
	>80 mesh	0,6	8,1	3,3	12,1	21,0	5,3	26,3
	<16 mesh_0.2	0,3	4,7	3,2	8,2	16,8	5,0	21,8
	16/40 mesh_0.2	0,3	5,6	3,9	9,8	17,4	5,4	22,8
	40/60 mesh_0.2	0,3	5,5	4,2	10,0	18,3	6,1	24,4

Anexo 4 – Teores de extractivos da fracção 40/60 mesh em cada um dos solventes, teores totais de extractivos e teores de lenhina Klason das amostras analisadas.

Amostra	Extractivos%				Lenhina%
	Diclorometano	Etanol	Água	Total	Total
Pnb_A	1,4	1,2	1,5	4,1	26
Pnb_B	3,7	1,1	5,0	9,8	25,8

Amostra	Extractivos%				Lenhina%		
	Diclorometano	Etanol	Água	Total	Klason	Solúvel	Total
Eg_A	0,3	1,3	0,9	2,4	17,4	6,1	23,5
Eg_B	0,4	5,8	3,1	9,2	18,0	5,0	23,0